

HET EFFECT VAN GEFRATIONEERDE
RÖNTGENBESTRALING OP HART EN AORTA

PROMOTOR: prof. dr. D. W. VAN BEKKUM

CO-REFERENTEN: prof. dr. M. J. DE VRIES, dr. G. W. BARENDSEN

HET EFFECT VAN
GEFRACTIONEERDE RÖNTGENBESTRALING
OP HART EN AORTA

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENEESKUNDE AAN DE MEDISCHE FACULTEIT
TE ROTTERDAM, OP GEZAG VAN DE DECAAN PROF.
D. C. DEN HAAN, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN
DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN
OP 17 JUNI 1970 TE 16.00 uur

DOOR

ANTONIUS HUBERTUS KEIJSER

geboren te 's-Gravenhage in 1926

1970

W. D. MEINEMA N.V. - DELFT

Aan de nagedachtenis van mijn vader

Aan Gré en de kinderen

De proeven met de konijnen werden verricht in het Instituut voor Pathologische Anatomie (hoofd: destijds prof. dr. H. J. G. Wyers; thans prof. dr. P. H. M. Schillings), het Instituut voor Radiologie (hoofd: prof. dr. W. H. A. M. Penn), het Centrale Dierenlaboratorium (directeur: dr. M. J. Dobbelaar) en de afdeling medische fotografie (hoofd: A. Th. A. I. Reynen) van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

De proeven met de rhesusapen en de bewerking van deze dissertatie vonden plaats in het Radiobiologisch Instituut van de Gezondheidsorganisatie TNO te Rijswijk (directeur: prof. dr. D. W. van Bakkum). De histologische bewerking van het materiaal van de apenproeven werd verricht bij de Werkgroep Experimentele Gerontologie TNO (hoofd: dr. C. F. Hollander). De heer J. Ph. de Kler verzorgde de figuren; de heer P. Ferro maakte de micro-foto's van het apenexperiment.

Het omslagontwerp is vervaardigd door de medische tekenkamer van de Katholieke Universiteit te Nijmegen (hoofd: Chr. van Huijzen).

INHOUD

HOOFDSTUK I	1. Inleiding	9
	2. Literatuurgegevens	11
	3. Radiologische aspecten	18
	Totale dosis	19
	Stralingsgevoeligheid	19
	Fractionering	22
	4. Het aspect van de atherosclerose	23
	5. Opzet en vraagstelling	27
HOOFDSTUK II	1. Proefopstelling bij het konijn in experiment I en II . . .	29
	Dosimetrie	31
	Cholesterolvoeding	34
	Verloop van het experiment I en II	37
	2. Proefopstelling bij de rhesusaap	42
	Dosimetrie	43
	Verloop van het experiment	44
HOOFDSTUK III	Macroscopisch onderzoek	48
	Techniek	48
	Resultaten	52
	a. het konijnenexperiment I	52
	b. het konijnenexperiment II	56
	c. proeven met rhesusapen	60
	d. conclusies	61
HOOFDSTUK IV	Microscopisch onderzoek	63
	Techniek	63
	Resultaten	63
	a. het konijnenexperiment I	63
	b. het konijnenexperiment II	77
	c. proeven met rhesusapen	85
	d. conclusies	96
HOOFDSTUK V	Discussie	98
	Samenvatting	103
	Summary	107
	Literatuur	111

HOOFDSTUK I

1. Inleiding

In de periode van ruim 60 jaar dat ioniserende straling in de geneeskunde wordt toegepast, is over het effect en het werkingsmechanisme hiervan op verschillende organen en orgaanstelsels veel onderzoek gedaan bij mensen zowel als bij allerlei proefdieren. Ook zijn het hart en de aorta na bestraling onderzocht, doch dit onderzoek is weinig diepgaand gedaan en voor zover er effecten zijn beschreven, betreft het nog voornamelijk die, welke werden aangetroffen na een hoge eenmalige dosis röntgenstraling. Deze eenmalige hoge doses zijn echter voor de kliniek niet van veel belang, omdat in de radiotherapie een gefractioneerde bestraling gebruikelijk is. Het is opvallend, dat proeven over het effect van een gefractioneerde röntgenbestraling tot totale haarddoses, zoals deze in de radiotherapie gebruikelijk zijn, in de radiobiologische literatuur over het hart en de aorta ontbreken.

In de kliniek zijn na de behandeling van intrathoracaal gelegen tumoren met ioniserende stralen, beschadigingen aan het hart en de aorta beschreven, doch niet zo dikwijls, dat deze lesies op zichzelf een beperkende factor vormen om bij centraal gelegen thoraxtumoren tot hoge haarddoses te bestralen. De interpretatie van de beschreven afwijkingen wordt bemoeilijkt door het feit, dat reeds vóór de behandeling een zekere mate van atherosclerose kan bestaan. De aard van de aandoening, waarvoor de bestralingsbehandeling wordt gegeven, brengt namelijk met zich mee, dat het meestal oudere patiënten betreft, waarvan men mag aannemen, dat er bij verschillende van hen reeds vóór de behandeling een zekere mate van atherosclerose heeft bestaan. Het is dan ook noodzakelijk bij een onderzoek naar het effect van röntgenbestraling op het hart en de aorta, voor zover mogelijk, het aspect van de atherosclerose te betrekken, wil men met een dergelijk onderzoek aansluiting op de kliniek hebben.

De vroeger beschreven afwijkingen aan het hart en het vaatstelsel zijn ontstaan na klinische bestraling met technieken, die nu niet meer worden gebruikt. Nu echter de laatste tijd door de toepassing van megavoltbehandeling de dosis op de tumor hoger is geworden, is de behoefte aan een inzicht in de relatie tussen deze hoge dosis en de beschadigingen aan het hart en het vaatstelsel wederom naar voren gekomen. Bij de orthovolttherapie vormt de huidbelasting meestal een belemmering om tot voldoende hoge haarddoses te komen, maar met de megavoltbehandeling kan een hogere tumordosis worden gegeven, omdat de huidbelasting veel minder is en omdat het om de tumor liggende „gezonde weefsel” meer wordt gespaard ten gevolge van een geringere mate van verstrooiing van de hoog-energetische ioniserende straling. Dit weefsel-sparend effect geldt in mindere mate voor het hart en de aorta, omdat deze soms in de directe bundel liggen en daardoor een hoge dosis kunnen krijgen, ondanks het feit,

dat men zijn bestralingsplan zo behoort te maken, dat het „gezonde weefsel” zoveel mogelijk buiten het hoge-dosisgebied valt.

Men kan zich afvragen of een onderzoek bij proefdieren naar de veranderingen in het hart en de aorta na exposities, die overeenkomen met de in de kliniek gebruikte, enige praktische betekenis heeft. De overlevingsduur van patiënten met intrathoracaal gelegen maligne processen is vaak kort. De kans op een curatief effect is echter toegenomen, nu het om bovengenoemde redenen mogelijk is met megavolttherapie hoge haarddoses te geven.

Als de meest op de voorgrond tredende aandoening kan genoemd worden het maligne granuloom, waarbij men voor een curatief opgezette behandeling een totale dosis van 4000 R tot 6000 R noodzakelijk vindt [Peters 109, 110; Kaplan 72].* Gezien de uitbreiding van de Morbus Hodgkin zal het soms niet mogelijk zijn het hart en de aorta buiten het hoge-dosisgebied te houden.

Ook voor andere aandoeningen, met name het oesophaguscarcinoom en het centraal gelegen longcarcinoom, neigt men er toe een steeds hogere dosis te geven, omdat ook hierbij bemoedigende resultaten worden beschreven. Voor de categorie patiënten, die curatief bestraald worden en waarbij het hart en de aorta een hoge dosis ioniserende straling ontvangen, heeft het dan ook zeker zin het effect van de bestraling op genoemde organen te kennen.

Vóór het onderzoek begonnen werd, is overwogen of er wellicht voldoende gegevens uit het bewerkte patiëntenmateriaal zijn te halen, die conclusies toelaten ten aanzien van de aard en de frequentie van de beschadigingen van het hart en de aorta in relatie tot de dosis. Er vinden immers regelmatig obducties plaats bij patiënten, waarvan men weet, dat zij met hoge doses zijn bestraald en waarbij men de dosis, welke in het hart en de aorta is geabsorbeerd, kent of kan berekenen. Zo beschrijven De Boer [15] en Rubin en Casarett [123] een aantal gevallen van beschadigingen aan het menselijk hart toegebracht door bestraling. Het is echter duidelijk gebleken, dat men uit het sectiemateriaal niet tot een dosis-effectrelatie kan besluiten. Enerzijds kent men de toestand van het hart en het vaatstelsel vóór het begin van de bestraling niet en anderzijds weet men bij deze incidentele gevallen niet in hoeverre de gevonden afwijkingen worden bepaald door de maligne aandoening of de daarmee samenhangende anemie, cachexie en infectie. Al deze factoren bij elkaar maken een experimenteel onderzoek wel degelijk noodzakelijk.

Samenvattend kan gesteld worden, dat een nader onderzoek gewenst is naar het effect van ioniserende straling op het hart en de aorta, toegediend in gefractioneerde doses en tot een totale haarddosis, zoals in de radiotherapie gebruikelijk is. Bij een dergelijk onderzoek moet bovendien het probleem van de atherosclerose betrokken worden, omdat het mogelijk is, dat een bestralings-effect op het hart en de aorta beïnvloed wordt door een preëxistent vaatlijden.

* Daar bij het begin van het onderzoek de stralingsdosis nog werd uitgedrukt in R, werd deze notatie voor de latere experimenten aangehouden. Voor 250 kV röntgenstraling is de omrekeningsfactor van R naar rad in zacht weefsel te stellen op 0,96.

2. Literatuurgegevens

In de radiologische literatuur zijn talrijke mededelingen verschenen over het effect van bestraling op hart en vaatstelsel. Vaak echter betreft het kasuïstiek aan kleine groepen patiënten en vooral in de vroegere publikaties ontbreken daarbij bovendien exacte gegevens over de dosimetrie. Evenmin kan de gegeven dosis opgemaakt worden uit de beschrijving, omdat de thans als noodzakelijk geachte bestralingsgegevens (kilovoltage, h.v.d.,* veldgrootte, f.h.a.** en totale haarddosis) in het geheel niet of slechts gedeeltelijk worden genoemd. Men kan in de betreffende literatuur twee perioden onderscheiden, die samenhangen met de dosimetrie waardoor eerst na 1930 bruikbare gegevens worden vermeld. Vóór 1930 zijn er slechts incidentele mededelingen verschenen en is meestal reeds op grond van het ontbreken van een adequate dosimetrie een juist inzicht in de dosis-effectrelatie onmogelijk. In de publikaties, die na 1930 zijn verschenen, vindt men weliswaar de dosis opgegeven of kan deze op grond van de verstrekte gegevens worden berekend, maar een onderzoek over het effect van een gefractioneerde serie röntgenbestralingen ontbreekt ook in deze periode.

Desjardins [42] gaf in 1932 een uitgebreide samenvatting van de publikaties, die tot dan toe over de afwijkingen aan hart- en vaatstelsel na bestraling waren beschreven. Na het bestuderen van zijn literatuuronderzoek en van de artikelen zelf, voor zover deze beschikbaar waren, bleek een deel daarvan niet bruikbaar te zijn. Een typisch voorbeeld daarvan is in de menselijke pathologie de beschrijving van een klinisch syndroom door Coutard en Lavedan [39] en Lavedan [88], dat thans als röntgenkater geduid zou worden. Evenmin van belang is het onderzoek van Levy en Golden [94], die een gunstig effect van bestraling op het hart beschrijven. Het betreft hier 20 patiënten met reumatische hartafwijkingen, die een röntgenbestraling van het hart kregen in een dosis van totaal 60 R, gegeven in vier gelijke fracties verdeeld over totaal 8 weken. Bij 17 van de 20 patiënten werd een verbetering van het e.c.g. gevonden. Deze is met de huidige kennis van de radiobiologie niet te verklaren, daar de dosis zo laag is, dat hiervan zelfs geen ontstekingsremming kan worden verwacht. Men vraagt zich dan ook af of deze verbetering niet eerder veroorzaakt werd door de extra algemene zorg die aan deze patiënten is besteed.

Voor zover het gaat om afwijkingen aan het hart is uit de periode vóór 1930 wel van belang de mededeling van Schweizer [128]. Deze auteur beschrijft de afwijkingen die hij zag bij een 32-jarige vrouw, die wegens Morbus Hodgkin in de loop van ruim 1 jaar een aantal röntgenbestralingen op het mediastinum ontving. De totaal toegediende dosis is uit de publikatie niet op te maken. Schweizer vond in het hart van deze patiënte een bruine atrofie en een klein-vacuolaire degeneratie van het sarcoplasma, afwijkingen die hij hield voor een typisch röntgeneffect. Men vraagt zich echter af of ondervoeding en infectie niet eerder als oorzaak van de beschreven af-

* h.v.d.: halveringsdikte: die dikte van een bepaalde stof, waardoor de dosis tot de helft wordt gereduceerd. Deze is een maat voor de stralenkwaliteit.

** f.h.a.: focus-huidafstand.

wijkingen moeten worden aangemerkt. Voorts is door het ontbreken van goede dosimetrie de waarde van deze eerste mededeling niet te evalueren. Van meer betekenis is de beschrijving, die Domagh [45] gaf van het hart na een dosis van 2,5 h.e.d.*. Domagh vond evenals Schweizer het beeld van de bruine atrofie. Voorts beschreef hij afwijkingen, die voorkwamen aan de bloedvaten van de huid en bestonden uit hyalinisatie van de gehele vaatwand, het plaatselijk verdwijnen van het endotheel en de vorming van een kleincellig infiltraat in de huid rond het bloedvat.

Uit de eerste periode van toepassing van ioniserende stralen dateert ook het onderzoek van Gottesman en Bendick [64], die als enigen een invloed van radium op het hart beschrijven. Hun patiënt was een 50-jarige man met een cardiacarcinoom, waarbij 30 mg radium gedurende 50 uur in de tumor werd geapplianceerd. Bij obductie werd een verbinding van de pericardholte met de maag gevonden, benevens een fibrineuze en purulente pericarditis. Ook deze mededeling heeft voor het onderhavig onderzoek betrekkelijke waarde, omdat de maagperforatie weliswaar kan worden verklaard door de radiumbestraling, maar de pericarditis eerder veroorzaakt lijkt door infectie vanuit de geperforeerde maag.

In de periode tot omstreeks 1930 zijn ook *dierproeven* verricht om de afwijkingen, zoals die bij de mens na ioniserende straling zijn gevonden, beter te leren kennen. Gordon, Strong en Emery [62] vonden bij de bestraling van konijnen tot een totale haarddosis van 5000 R in 1 of 3 fracties toegediend, geen veranderingen aan het myocard. Wel vonden zij bij deze haarddosis afwijkingen aan het rattehart. Deze bestonden uit een vette degeneratie van de hartspier met pycnose van de kernen en interstitieel lymfocytair infiltraat. Wahrtin en Pohle [149] konden deze afwijkingen echter niet reproduceren met overigens dezelfde proefopstelling. Hartman, Bolliger, Doub en Smith [66] zijn de enige auteurs, die melding maken van een gefractioneerde röntgenbestraling, die zij uitvoerden bij de hond en het schaap. Dit onderzoek vond plaats, omdat zij bij 3 patiënten met intrathoracaal gelegen tumoren na bestraling hartafwijkingen bij obductie vonden. Deze hartafwijkingen beschreven zij als een vacuolaire- en hyalinedegeneratie van het myocard en een polymorf en rondcellig infiltraat. Bovendien werd vernauwing van het lumen van de coronair arterien waargenomen, voornamelijk door niet nader omschreven verdikking van de vaatwand. De dosis geven deze auteurs op als h.e.d., doch het is niet duidelijk of de daaruit af te leiden doses van 1800 R, 7000 R en 7000 R bij de respectievelijke patiënten, een huid- of haarddosis is, omdat het stralingsplan niet wordt beschreven. Wat de dierproef betreft slaagde Hartman c.s. er in bij de hond en het schaap dezelfde hartafwijkingen te reproduceren. Deze auteurs gaven daartoe een gefractioneerde bestraling over een periode van 30 tot 60 dagen. De totale haarddoses, die zij in h.e.d. opgaven, moeten op grond van hun mededeling tussen de 3000 R en de 10.000 R hebben bedragen. Een dosis-effectrelatie kan noch uit hun dierproeven, noch uit de mededelingen

* h.e.d.: huiderytheem dosis: die eenmalige dosis, die een huiderytheem veroorzaakt en niet tot blijvende beschadiging leidt. Komt overeen met het effect van ongeveer 600 R vrij in lucht gemeten.

over hun patiënten worden afgeleid. Wel zijn deze auteurs de eersten, die althans bij hun proefopstelling het effect van de bestraling nagingen op het e.c.g. Zij beschreven onder meer een omkering van de T-top en een verlenging van het P-R-interval kort na de bestralingsproeven en onder meer boezemfibrilleren en arhythmieën na 2 maanden. Ook voor deze e.c.g.-afwijkingen gaven zij geen relatie tussen dosis en effect aan. Wel merkten zij op, dat röntgenbestraling in het dierexperiment gebruikt kan worden als niet-operatieve methode om afwijkingen aan het myocard en daarmee gepaard gaande veranderingen van het e.c.g. te veroorzaken en zodoende de mogelijkheid te scheppen om de werking van bepaalde farmaca op het zieke hart te onderzoeken. Voor zover nagegaan kan worden is deze suggestie nooit door anderen overgenomen.

Wat betreft het experimenteel onderzoek vóór 1930 zijn er ook waarnemingen aan de vaatwand en het hart bekend na toepassing van radium. De publikatie van Dobrovalskaia en Zavadskaia [44] vermeldt de plaatsing van radiumelementjes langs de verschillende bloedvaten, waaronder ook de aorta, bij de hond en het konijn. De toegediende doses zijn niet uit hun geschrift te halen, zodat het onmogelijk is te zeggen bij welke dosis de door hen waargenomen afwijkingen, zoals trombose en fibrose van de vaatwand, ontstonden. Borman [16] noemt wel de activiteiten van zijn radiumbronnen, die hij subepicardiaal plaatste bij een 14-tal honden en die hij gedurende 8 uur tot 8 maanden liet zitten. De minimum dosis bedraagt volgens onze berekening ± 50 R in 8 uur. Voor de applicatie gedurende de periode van 8 maanden komt men tot waarden van minstens 42.000 R. Het is dan ook niet te verwonderen, dat Borman bij de dieren, die een dergelijke hoge dosis ontvingen, fibrose en calcificatie van het pericard waarnam. Aan het myocard werd slechts necrose beschreven, terwijl vaatveranderingen geheel ontbraken. Ten aanzien van de fibrineuze epi- en pericarditis, die werd gevonden bij de gedurende 8 uur bestraalde honden, kan men zich afvragen of het niet eerder een effect is geweest van de operatie dan een bestralings-effect. Uit de gerefereerde literatuur tot 1930 zijn degeneratieve veranderingen en vermeerdering van bindweefsel in de hartspeer bekend en aan de bloedvaten vaatwandverdickening door bindweefselvermeerdering, alsmede hyalinose en lymfocytair infiltraat; het laatste in de adventitia. Met Desjardins [42] moet men zich afvragen in hoeverre deze afwijkingen aan het hart en het vaatstelsel specifiek zijn voor de bestraling. Het is mogelijk dat deze afwijkingen geheel of gedeeltelijk het gevolg zijn van de slechte voedingstoestand en van infecties, die zowel bij de patiënten, als bij de proefdieren regelmatig voorkwamen.

Evenmin als deze waarnemingen een inzicht geven in de werkelijke oorzaak der lesies, evenmin kan men een duidelijk verband aangeven tussen stralingsdosis en de gevonden afwijkingen, omdat een betrouwbare dosimetrie veelal ontbrak.

In de periode na 1930 vindt men regelmatig verslagen over het effect van bestraling op hart en vaatstelsel van de *mens*. Het voordeel van deze meer recente artikelen is, dat de dosis wel wordt opgegeven, ofschoon soms een beschrijving van de gebruikte techniek ontbreekt, waardoor een verificatie van die doses niet mogelijk is. Voorts is

het opmerkelijk, hoe dikwijls de verschillende publikaties met elkaar in tegenspraak zijn. Ook in de meer recente literatuur blijkt veel van hetgeen over het bestralings-effect geschreven is irrelevant te zijn voor ons onderzoek. Een voorbeeld hiervan treft men aan in het overzicht van Ellinger [49] waarin hij zonder enige aanduiding van doses stelt, dat het hart een van de meest radioresistente organen is, omdat daarin pas na het geven van zeer hoge doses afwijkingen zouden optreden. Voor het vaatstelsel komt Ellinger tot eenzelfde ongenueanceerde conclusie. Gendreau [56], Faust [52] en Ross [121] opperden slechts de mogelijkheid van hartbeschadiging door ioniserende straling. Catterall [32] vond na totale haarddoses van meer dan 2000 R op de thoraxwand, als behandeling na een mastectomie wegens mammacarcinoom afwijkingen aan het e.c.g. Zij meent dat deze veranderingen worden veroorzaakt door de bestraling. Grál en Grál [65] steunen haar opvatting, doch Jones en Wedgwood [71] stellen, dat de gevonden afwijkingen van het e.c.g. (o.a. omkering van de T-top in de V1-, V2- en V3-afleiding) ten dele moeten worden verklaard door de veranderde anatomische verhoudingen na de mastectomie en niet op te vatten zijn als uitsluitend een bestralings-effect.

Op grond van een onderzoek tijdens klinische observatie bij 309 volwassenen, die bestraald werden voor intrathoracaal gelegen tumoren, is Schneider [127] overtuigd van het optreden van hartlesies, al houdt hij rekening met de mogelijkheid, dat deze schade secundair kan zijn veroorzaakt door een bestralingspneumonitis en een slechte algemene toestand van de patiënt. Schneider vond echter geen relatie met de stralings-dosis. Wel kreeg hij uit het onderzochte patiëntenmateriaal de indruk, dat bij een bestaand hartlijden het e.c.g.-patroon door bestraling afwijkingen kan gaan vertonen en hij gaf daarom in overweging bij een slechte algemene toestand en bij een ernstig hartlijden te zorgen, dat het hart slechts een lage dosis ontvangt. Als men hiertoe de in de nabijheid van het hart gelegen tumor lager dan wenselijk is moet doseren, dan prefereert Schneider een palliatieve bestraling boven een curatieve tumorbehandeling, omdat de laatste de kans geeft op verergering van het hartlijden.

Over stralingsschade op de grote vaten vindt men mededelingen van Cade [31] en Marcial-Rojas en Castro [103]. Deze klinici beschreven enkele gevallen van het barsten van een aneurysma van de aorta en de a. carotis na bestraling met gebruikelijke tumordoses. De auteurs trekken zelf in twijfel of de bestraling wel de enige oorzaak is van de aneurysmaruptuur, omdat in één geval het aortaaneurysma al vóór de bestraling bestond. Bij de carotisafwijkingen werd aangetekend, dat er infectie en lekkage van speeksel uit de glandula parotis bestonden, als complicatie van de nekdissectie, die na de bestraling plaats vond.

Bij de criteria, die werden toegepast om de schade van hart- en vaatstelsel na te gaan, vindt men naast morfologische ook andere kenmerken. Hoewel de macroscopische en microscopische afwijkingen het meest onze belangstelling hebben, is het nodig na te gaan of het niet beter is deze morfologische criteria te vervangen door andere, omdat de publikaties soms volkomen met elkaar in tegenspraak zijn.

Wat betreft de afwijkingen van het e.c.g. kan deze vraag ontkennend worden be-

antwoord. Uit de reeds gerefereerde publikaties [32, 65, 66, 71] blijkt, dat er geen relatie bestaat tussen de toegediende stralingsdosis en de wisselende afwijkingen van het e.c.g., terwijl er evenmin een relatie is gevonden tussen de dosis, de e.c.g.-veranderingen en de morfologische afwijkingen. Over de serumglutamine-oxaalazijnzuur-transaminase (s.g.o.t.) – activiteit van het bloed na beschadiging van het hart door bestraling zijn mededelingen verschenen van onder anderen Kessler c.s. [76], Vaeth c.s. [146] en Takaoka [140]. De eersten vonden bij konijnen een stijging van het s.g.o.t.-gehalte in het serum met een maximum 11 uur na de bestraling, doch er bestond enerzijds geen verband tussen het s.g.o.t.-gehalte en de dosis, die 1000 R tot 15.000 R bedroeg, noch tussen het s.g.o.t.-gehalte en de overlevingsduur van de bestraalde konijnen. Bij de mens vond Vaeth geen significante overeenkomst tussen afwijkingen van het e.c.g. en de gehalte van het s.g.o.t. Het betrof hier een onderzoek bij 24 patiënten, die met megavoltapparatuur werden behandeld met doses van 1000 R tot 6000 R in 14 tot 70 dagen. Vaeth tekent hierbij aan, dat minstens 35% van de hartspier in het hoge-dosisgebied heeft gelegen. Takaoka vond bij 5 honden een correlatie tussen irreversibele e.c.g.-afwijkingen en een stijging van het s.g.o.t.-gehalte na enkele doses op het hart, die varieerden van 750 R tot 6000 R. Bij reversibele e.c.g.-afwijkingen bleek het s.g.o.t.-gehalte steeds normaal te zijn. Deze resultaten zijn echter geen reden om de morfologische criteria te vervangen door andere, die geen direct inzicht verschaffen in de aard en de omvang van de lesies. Gezien de na 1930 verkregen klinische informatie over de beschadigingen van het hart en het vaatstelsel, is de behoefte gebleken deze door middel van het dierexperiment nader te analyseren. De resultaten brachten echter weinig nieuws over de fractionering. De enig bruikbare bijdrage is eigenlijk die van Stewart c.s. [133], die het effect onderzocht van röntgenbestraling op het konijnehart na doses van 750 R tot 20.000 R. De dosis werd in éénmaal gegeven. Beneden de 10.000 R werd nooit enig effect gezien. De obducties werden 33 tot 91 dagen na de bestraling verricht. Na doses boven de 10.000 R vonden deze auteurs wel veranderingen, namelijk een interstitiële fibrose en een verdwijnen van spiervezels. Naarmate de dosis hoger was, werden sterkere afwijkingen geconstateerd. In de hartvaten werd een proliferatie van het endotheel aangetroffen, alsmede een fibrose van de intima. De door Stewart c.s. gevonden afwijkingen waren zodanig in overeenstemming met de beelden, die zij in de menselijke pathologie hadden waargenomen [245], dat zij concludeerden, dat het konijn een goed proefmodel is om de afwijkingen te bestuderen, die aan het hart ontstaan ten gevolge van een bestraling.

Het is merkwaardig hoe weinig mensen zich in de periode na 1930 hebben bezig gehouden met het onderzoek naar het effect van ioniserende stralen op de grote vaten en met name op de aorta. Een uitzondering vormt het werk van Lamberts [85], Brinkman en Brinkman, Lamberts en Bottema [25, 26]. Zij introduceerden een methode om het effect van stralen op de aorta kwantitatief te meten. Dit deden zij door het injiceren van een vloeistof in de wand van de aorta, waarbij een bepaalde druk nodig bleek te zijn, als de punt van de injectienaald subendotheliaal was gelegen. Tijdens en na een röntgenbestraling van de aorta bleek deze benodigde druk duidelijk af te nemen.

In een andere proefopstelling brachten genoemde auteurs een trypaanblauw- of congoroodoplossing onder druk in het lumen van de aorta, na deze op 2 plaatsen te hebben afgebonden. Na een röntgenbestraling bleek de kleurstof dieper in de aortawand te zijn gedrongen, dan dit het geval was als er geen bestraling was gegeven. Deze proeven, die informatie geven over een vroeg stralingseffect, geven steun aan hun hypothese, dat door röntgenbestraling een depolymerisatie ontstaat van mucopolysacchariden, waaruit voor een belangrijk deel de tussensubstantie in de aortawand is gevormd. Hierdoor kan de kleurstof gemakkelijker vanuit het lumen in de wand doordringen. Ditzelfde zou ook kunnen gelden voor macromoleculen en met name lipoproteïnen. Het aan macromoleculen gebonden cholesterol wordt volgens deze opvatting na röntgenbestraling in grotere hoeveelheid in de vaatwand opgenomen dan onder normale omstandigheden, waardoor het optreden van atherosclerose zal worden bevorderd. Om deze hypothese te toetsen hebben Lamberts en De Boer [85, 86] de volgende proeven gedaan. De a. carotis van met cholesterol gevoederde konijnen werd éénmaal unilateraal bestraald. De dosis varieerde van 150 R tot 4500 R en de tijd tussen de bestraling en het vaatonderzoek van 9 tot 72 dagen. Zij vonden aan de bestraalde zijde een infiltratie van lipiden in de gehele vaatwand. Voorts ophoping van met dubbelbrekend vet beladen macrofagen in de intima en degeneratieve veranderingen in de spiervezels en het elastineapparaat. Aan de andere, niet bestraalde kant, werden geen afwijkingen aan de a. carotis gezien. Naarmate de dosis röntgenstraling groter was, nam de ernst van de afwijkingen toe. Eveneens bleek de uitbreiding van de lesions toe te nemen met de tijd na de bestraling. Toen Lamberts en De Boer het resultaat van hun onderzoek publiceerden waren wij bezig met het bestuderen van het effect van een gefractioneerde bestraling op hart en aorta van konijnen. Dit vormde echter geen reden om ons onderzoek af te breken. In tegendeel; want hoewel genoemde auteurs gezien de opzet en uitbreiding van hun experiment wel belangstelling moesten hebben voor de kliniek, is hun opstelling zo, dat deze alleen al door het ontbreken van een gefractioneerde bestraling afwijkt van het klinisch gebruikelijke. Voorts beschreven zij afwijkingen aan de a. carotis na een enkele dosis van 150 R. Het was ons toen reeds bekend, dat er na een gefractioneerde bestraling tot een totale dosis van 2000 R, waarbij 10 fracties van ieder 200 R werden gegeven in 2 weken, geen afwijkingen aan de aorta van het normaal gevoederde konijn optraden. Het onderzoek is door ons dan ook afgemaakt, omdat we niet konden aannemen, dat een enkele fractie van 150 R morfologische vaatafwijkingen kon geven en wij evenmin overtuigd waren, dat het verschil in bevindingen alleen kon worden verklaard, omdat Lamberts en De Boer de a. carotis hebben bestudeerd en wij ons bezig hielden met het effect op o.a. de aorta. De Boer [15] beschrijft in aansluiting op het bovengenoemde onderzoek enige beelden, zoals die aan hart en grote vaten door hem werden gezien bij obductie van 20 patiënten, die om verschillende redenen een thoraxbestraling hadden ondergaan. De haarddoses bleken te liggen tussen de 2400 R in 4 weken en 5300 R in 4,5 week bij 5 patiënten, wier historia morbi uitgebreid werd medegedeeld. In de arteriën, gelegen in het bestraalde gebied, werden atherosclerotische ver-

anderingen waargenomen, terwijl in de hartspier bindweefselhaarden werden gevonden, alsmede het beeld van myocytolyse, waaronder hij verstaat het uiteenvallen en verdwijnen van de celsubstantie uit de spiervezel. De kleinere takken van de coronairarteriën waren vaak vernauwd en soms afgesloten door intimaverdikking en trombusvorming. Deze bij de obductie van de mens verkregen beelden, trachtte De Boer te reproduceren bij het met cholesterol gevoederde konijn. Daartoe werden 6 dieren op de hartstreek bestraald. Vijf exemplaren kregen eenmaal een luchtdosis van respectievelijk 2000 R tot 5000 R met röntgenstralen, waarvan het geringe doordringingsvermogen is af te leiden uit de medegedeelde gegevens: 50 kV; 25 mA; 1 mm Al filter; 15 cm focusafstand (bedoeld is hiermee waarschijnlijk focus-huidafstand). Helaas ontbreken gegevens over de dosisverdeling, maar op grond van röntgenfoto's en obducties bij konijnen is ons bekend, dat het hart, ventraal, minstens 2 cm onder de huid moet liggen. De dosis op het ventrale deel van het hart kan bij de door De Boer gebruikte stralenkwaliteit niet veel meer zijn dan ± 600 R, terwijl het dorsale veld van het hart, dat minstens 2 cm dieper ligt, hoogstens 100 R kan hebben ontvangen. Het is merkwaardig, dat De Boer met deze sterke dosisafval bij „weke” straling kennelijk geen rekening heeft gehouden. In zijn artikel ontbreekt namelijk niet alleen enige beschrijving van dosimetrie, maar evenmin vermeldt hij of er een verschil in effect is tussen de ventraal en dorsaal gelegen hartspiergedeelten. Zonder meer worden beschreven een vacuolaire en vette degeneratie van de spiervezels en veranderingen van de kernen, zoals polymorfie en pycnose. De hartspiervaten waren eveneens afwijkend van normaal. Naast fibrinoïde en hyaline degeneratie van de wand, was er ook ophoping van met vet beladen lipofagen, zowel in de intima als in de media. Dergelijke afwijkingen waren het sterkst uitgesproken bij die proefdieren, die het langst na de bestraling in leven zijn gehouden. De duur van het experiment bedroeg voor deze groep konijnen 28 tot 70 dagen na de bestraling. Bij het konijn uit deze proefserie, dat bestraald werd met harde röntgenstralen (1×1500 R op het hart) mag men op radiologische gronden wel aannemen, dat in het hart een min of meer gelijkmatige exposie heeft plaats gevonden, al zal deze dosis waarschijnlijk iets lager zijn geweest dan 1500 R. Dit dier is spontaan na 3 dagen overleden, waarbij diffuus verspreid in de hartspier kleinere en grotere gebieden van fibrinoïde necrose werden gevonden. De Boer trekt uit zijn onderzoek als voorlopige conclusie, dat een bundel harde röntgenstralen aanleiding kan geven tot een directe en ernstige diffuse beschadiging van de hartspier en dat na een exposie aan straling van „zachte” kwaliteit er meer sprake is van een laat effect, dat secundair zou zijn aan de atheromateuze veranderingen van de coronair vaten. Het totaal ontbreken van bruikbare dosimetrische gegevens en de onwaarschijnlijkheid, dat de berekende lage dosis enig effect op het hart heeft, bracht ons er toe de lopende onderzoeken betreffende bestralings-effecten op hart en aorta voort te zetten.

Vat men de ons beschikbare literatuurgegevens over het effect van röntgenbestraling op hart en aorta samen, dan blijken er slechts enkele mededelingen van belang te zijn voor ons inzicht over het effect van gefractioneerde bestraling. Wat betreft

de pathologie van het hart moet men op grond van de publikaties aannemen, dat er een beschadiging aan het hart optreedt na röntgenbestraling met doses van ± 1500 R en hoger. Het effect van een gefractioneerde bestraling wordt nergens voldoende gedetailleerd behandeld en dit geldt in nog sterkere mate voor het bestralings-effect op bloedvaten en speciaal op de aorta, waarover iedere informatie ontbreekt. Dit zijn de redenen geweest om het effect van gefractioneerde röntgenbestraling op hart en aorta uitgebreid bij proefdieren te bestuderen.

3. Radiologische aspecten

Bij een onderzoek naar het effect van een bestraling op organen in het algemeen en op het hart en de aorta in het bijzonder, zijn vanuit radiologisch standpunt 3 factoren van belang, namelijk de totale dosis, de stralingsgevoeligheid van bepaalde weefsels en het fractioneringsschema. Alvorens op deze 3 facetten in te gaan, dient de terminologie zoals die gebruikt wordt bij de begrippen totale dosis en fractioneringsschema, nader te worden toegelicht.

Bij de opgave van de totale dosis is het van belang informatie te verstrekken over de distributie van deze dosis in weefsel. Daarvoor maakt men gebruik van het begrip isodosenlijnen, waaronder men de lijnen verstaat, die de punten van gelijke dosis verbinden, waarbij de dosis wordt uitgedrukt in procenten van de maximale dosis van 100%. Daar een bepaald gebied echter een exposie kan ontvangen van verschillende bestralingsvelden, is het mogelijk, dat door sommatie van de bijdragen van de verschillende velden, de maximale dosis hoger is dan 100%. In het radiologisch jargon komen dan isodosengebieden boven de 100% voor, omdat men uit praktische overwegingen niet terugrekenet tot 100%. Men probeert steeds het hoge dosis gebied samen te laten vallen met het te bestralen object, doch het komt dikwijls voor dat het volume van het doelgebied groter is, dan het 100% isodosengebied. Men moet daarom bij de dosis in een orgaan opgeven welk isodosengebied men bedoelt. Het is bijvoorbeeld bij de bestraling van het hart mogelijk, dat de maximum dosis in het centrum van het hart ligt en de overige delen van dit orgaan in het gebied van de 80% isodosen ligt. Geeft men op: de totale dosis bedraagt 6000 R, dan is het zonder meer niet duidelijk of slechts het centrale hartgedeelte deze dosis heeft gekregen, of dat men bedoelt, dat het gehele hart aan deze dosis is onderworpen. In het geval van een dosis van 6000 R op 100% kan de wand van het hart slechts 80% ofwel 4800 R als totale dosis hebben ontvangen. In het geval van 6000 R op 80% is er centraal in het hart een hoge dosis-gebied van 7500 R. Het ontbreken van een opgave van de dosisdistributie in het object van studie schept dan ook dikwijls verwarring. Bij kleine proefdieren, zoals het konijn, is de dosisverdeling meestal geen probleem, behalve als men „zachte“ straling gebruikt.

Het begrip fractionering houdt in, dat een totale dosis niet in eenmaal wordt gegeven, maar in afzonderlijke fracties, die meestal van gelijke grootte zijn en niet vaker dan eenmaal daags worden gegeven. Evenals bij de totale dosis dient men bij de frac-

tionering niet alleen de grootte van de dosis op te geven, maar ook over welk isodosen-gebied deze fractie zich uitstrekt. Voorts is het noodzakelijk het aantal fracties per week en de totale duur van de behandeling te vermelden.

Totale dosis

Voor een vergelijkend onderzoek van de afwijkingen aan het hart en de aorta door bestraling bij proefdieren met die, welke bij de mens kunnen optreden, is in de eerste plaats nodig vast te stellen in welk dosisgebied het best gewerkt kan worden. In de kliniek wordt bij tumorbehandeling op empirische gronden meestal een dosis van 6000 R in 6 weken toegepast. Een uitzondering blijkt uit de mededeling van Koudstaal en De Boer [83], waarbij wegens een bronchusadenoom tweemaal een serie bestralingen, ieder van 5100 R, binnen een jaar op de thorax werd gegeven. Dit is echter in de radiotherapie ongebruikelijk en deze doses worden dan ook niet bij ons onderzoek betrokken. De totale doses, die door diverse onderzoekers bij proefdieren op hart en vaten zijn gegeven, variëren zoals reeds in de vorige paragraaf werd beschreven zeer sterk, vanaf enkele tientallen R tot zeer hoge doses. Zo gaven bijvoorbeeld Leach en Sugiura [89, 90] op het rattehart doses van 1500 R tot 20.000 R. Slechts bij deze laatste extreem hoge dosis stierven enkele proefdieren binnen 14 dagen, waarbij als doodsoorzaak een peri- en epicarditis werden gevonden. Bij lage doses namen zij slechts in enkele gevallen degeneratieve afwijkingen aan de hartspier en meestal bronchopneumonie waar.

Wil men de klinische situatie zo goed mogelijk evalueren, dan is het nodig de doses zoals deze in de kliniek gebruikt worden, te imiteren. Dan komt niet alleen de totale dosis van 6000 R in aanmerking, maar eveneens een lagere, omdat wij ook geïnteresseerd zijn in het effect hiervan: het hart en de aorta liggen immers niet altijd in het zelfde hoge-dosisgebied als het te bestralen proces.

Stralingsgevoeligheid

Een klinische imitatie van het effect van ioniserende straling heeft alleen zin als:

1. het model, dat in het experiment wordt gebruikt, zoveel op de mens lijkt, dat een extrapolatie van de opgetreden afwijkingen zonder meer mogelijk is;
2. de stralingsgevoeligheid van het weefsel, dat onderzocht moet worden, bij mens en proefdier in dezelfde orde van grootte ligt.

Daar een onder 1 genoemd model niet bestaat en wat betreft 2 er te weinig bekend is van het essentiële mechanisme, moet gezocht worden naar andere criteria om tot een model te komen, dat in stralingsreactie de mens het meest nabij komt. Deze reactie kan men nagaan aan verschillende organen, die uitgebreid en vergelijkend zijn onderzocht, zoals de huid, het haematopoëtisch systeem (gemeten aan de L.D. 50/30 dagen *) en de cellulaire gevoeligheid in het algemeen. Ten aanzien van de reactie van de huid

* L.D.50/30 dagen: hieronder verstaat men die enkele dosis op het gehele lichaam, waarbij de helft der individuen binnen 30 dagen komt te overlijden.

bij de mens ziet men een dermatitis optreden na een gefractioneerde dosis van 3600 R in 4 weken [137], terwijl bij dieren met een haarvacht, zoals het konijn, er dan nauwelijks waarneembare reactie is. Behalve de diersoort spelen ook de leeftijd en de plaats van bestraling een rol. Is het optreden van radiodermatitis geen criterium voor de keuze van het proefmodel, evenmin is dit het geval voor de epilatie. Bij de meeste proefdieren is een dosis nodig die 30% hoger ligt, dan die, welke bij de mens haaruitval geeft. Sommige pelsdieren reageren met een plaatselijke vergrijzing van de haarvacht door een stoornis in de pigmentvorming, terwijl bij de mens de haargroei kleurrijker en voller wordt, als deze zich na een epilatie herstelt. Voorts zijn er wat betreft de haaruitval verschillen in diersoort, leeftijd en plaats van bestraling. Het is dan ook niet mogelijk op grond van een vergelijking van de huidreactie een conclusie te trekken ten aanzien van het meest geschikte proefobject.

De stralingsgevoeligheid van het gehele dier, gemeten aan de L.D. 50/30 dagen, is voornamelijk een maatstaf voor de gevoeligheid van het haematopoëtisch weefsel. Hierover bestaan veel gegevens. Rajewsky [117] geeft een lijst van de verschillende waarden van de L.D. 50/30 dagen, waaraan tabel I is ontleend.

Tabel I. De L.D.50/30 dagen voor verschillende zoogdieren.

Varken	430 R	Rat	590-970 R
Hond	300-430 R	Konijn	750-825 R
Aap	500 R	Cavia	175-409 R
Mens	400-500 R	Hamster	725 R
Muis	400-650 R		

Op grond van deze gegevens blijkt de L.D. 50/30 dagen van de verschillende zoogdieren in dezelfde orde van grootte te liggen, hoewel de L.D. 50/30 dagen van de aap het meest die van de mens benadert. Een voorkeur voor een bepaald proefdier is op grond van de letale dosis niet goed mogelijk, vooral als men zich realiseert, dat de L.D. 50/30 dagen slechts informatie geeft over het haematopoëtisch weefsel en onze belangstelling uitgaat naar een vergelijkend onderzoek van hart en aorta.

Kwantitatieve metingen van stralingsschade aan verschillende soorten menselijke en dierlijke cellen zijn in vitro uitgebreid verricht, nadat door Puck en Marcus [116] een techniek is ontwikkeld, waarbij het mogelijk is gebleken, het vermogen van menselijke en dierlijke cellen tot ongelimiteerde proliferatie kwantitatief te bepalen. Hiermee kan worden nagegaan welk effect een bepaalde dosis ioniserende stralen heeft op een in vitro geënt aantal cellen, waarbij na een bepaalde tijd elke cel kan uitgroeien tot een kolonie of kloon. Men mag echter de stralingseffecten op celpopulaties in vitro niet zonder meer gelijk stellen aan de effecten op organen, die behalve uit cellen ook uit vaten en bindweefsel zijn opgebouwd. Van de stralingsgevoeligheid van de grote vaten is nog niet bekend of en zo ja, welke cellulaire reacties hieraan ten grondslag liggen. Hoewel sommigen de nadruk leggen op het belang van de intercellulaire substantie, is het toch waarschijnlijk, dat de cellulaire stralingsschade bij de

veranderingen een rol speelt [25, 26, 119]. De stralingsschade op cellulair niveau kan worden uitgedrukt in de D_0 .^{*} Whitmore en Till [154] geven een uitgebreide lijst van deze D_0 -waarden voor cellen in vitro, waaraan de gegevens in tabel II zijn ontleend.

Tabel II. De D_0 voor verschillende cellen

<i>Menselijke cellen</i>	HeLa S-3 (een bepaalde stam van een uteruscarcinoom)	96 R
	HeLa S-3-3	131 rad
	HeLa S-30 xf	161 rad
	Embryonaal longweefsel	166 rad
	Embryonaal leverweefsel	119-140 rad
	Nierweefsel	100 rad
	Huid, Milt, Ovarium	75 R
	Hart	96 R
	Lever, Conjunctiva, Leukemie	140 rad
<i>Muisellen</i>	L 60 (fibrosarcoom)	240 rad
	L-P 59 (fibrosarcoom)	116 rad
	Beenmerg	71-115 rad
	Milt	70 R
	Lymfocyttaire leukemie (CBA muizen)	165 R
	Ehrlich ascitestumor	114 rad
<i>Chinese hamster</i>	V-79-1 (carcinoomcellen)	145-205 rad
	H-2 (haemangio-endothelioom)	170 rad
<i>Syrische hamster</i>	Ovarium	135-185 R
	BHK-21 (fibroblasten)	140 R
<i>Cavia</i>	RCP (een niet nader aangeduide stam)	110-120 R

Evenals bij de L.D. 50/30 dagen blijken uit deze tabellen ook enige verschillen voor de waarden van de gemiddelde letale dosis van verschillende menselijke en dierlijke cellen. De breedte waarover de D_0 -waarden bij zoogdieren variëren, zijn echter niet zo groot, dat op grond hiervan een bepaalde zoogdiersoort als proefobject zou moeten worden afgewezen. Evenmin is uit bovenstaande gegevens af te leiden of een bepaald zoogdier beter geschikt is dan een ander. Daarom zou men bij voorkeur gebruik willen maken van apen, omdat uit vele waarnemingen op uiteenlopende gebieden is gebleken, dat deze diersoorten ook in hun reacties op straling zeer dicht bij de mens staan. Aanvankelijk hadden wij geen beschikking over deze proefdieren, maar wij waren wel in de gelegenheid een aanvullend onderzoek te doen bij een aantal rhesusapen, een apesoort, waarvan geen gegevens bekend zijn wat betreft de reacties van het hart en de aorta op een bestraling. Voor het overige werd gewerkt met konijnen. Van konijnen zijn als veel gebruikte proefdieren daarentegen meer gegevens beschikbaar. Dit is echter niet de reden waarom ons onderzoek hoofdzakelijk bij deze diersoort is verricht. De motivering ligt eerder in het feit, dat men een proefdier van bepaalde grootte moet hebben om het hart en de aorta in een reproduceerbare opstelling zo te

^{*} D_0 : ook wel D_{37} genoemd; in zuiver radiobiologische termen die dosis, waarbij gemiddeld één letale gebeurtenis per cel plaatsvindt.

kunnen bestralen, dat het normale weefsel voldoende wordt gespaard. Het is daarom nodig dat het gewicht van het proefdier ten minste ongeveer 2,5 kg bedraagt. Een belangrijk bijkomend voordeel is, dat konijnen relatief goedkoop en gemakkelijk hanterbaar zijn. Op de omstandigheid dat bij het konijn op eenvoudige wijze atherosclerose is op te wekken, wordt onder de betreffende paragraaf nader ingegaan.

Fractionering

Behalve de totale dosis en de stralingsgevoeligheid van organen en weefsels moet tenslotte ook het principe van de fractionering genoemd worden als derde factor die van belang is bij een onderzoek over het effect van ioniserende straling. In de kliniek wordt reeds lang gebruik gemaakt van fractionering, waarbij het aantal fracties per week gewoonlijk 5 bedraagt. Sedert de frequente toepassing van megavoltbehandeling worden ook wel 3 fracties per week toegediend. Dit hangt o.a. samen met het huidsparend effect van megavoltbestraling, waardoor het geven van een hogere fractiedosis mogelijk is. Uit empirische gegevens is bekend, dat voor het doden van een bepaald percentage tumorcellen met gefractioneerde doses de totale dosis veel hoger moet zijn dan bij eenmalige bestraling. Vooral na het invoeren van de reeds genoemde celkweektechniek van Puck en Marcus is het mogelijk geworden het mechanisme van de fractionering na exposie aan straling van verschillende kwaliteit en onder verschillende omstandigheden kwantitatief te bestuderen [9, 10, 48]. Evenals na een eenmalige dosis, vond men na een gefractioneerde bestraling een relatie tussen het aantal cellen, dat na bestraling het vermogen tot proliferatie had behouden en de totale dosis. Deze dosis-effectrelatie heeft Elkind [48] uitgedrukt in een overlevingscurve, die bij een gefractioneerde bestraling andere karakteristieken bezit, dan bij een eenmalige. Uit de vorm van de experimenteel gevonden overlevingscurve leidde Elkind af, dat hogere fractiedoses effectiever zijn dan lagere bij gelijk blijven van de totale dosis. Bij een kleinere dagdosis is het effect verminderd als gevolg van een herstel van subletale schade. Anders gezegd is bij een grote fractiedosis het effect versterkt door een grotere bijdrage van de accumulatieve schade. Met deze gegevens construeerde Barendsen [9] een curve, die het verband aangeeft tussen het aantal fracties en de totale dosis, die nodig is om een tumor met hoge waarschijnlijkheid te steriliseren. Deze iso-effectcurve bleek grote overeenkomst te vertonen met de curve van Strandquist [137]. Deze laatstgenoemde auteur heeft uit resultaten van bestralingen van huidtumoren een verband afgeleid tussen de optimale tumordosis en het aantal fracties, dat nodig is om een genezing van huidtumoren te verkrijgen. Door nauwkeurige observatie van de reacties bij patiënten die met verschillende fracties waren bestraald, toonde Kok [80, 82] aan, dat behalve de totale tumordosis ook de grootte van de gegeven fractie invloed heeft op het effect van tumor- en normaal weefsel. Ook de wijze van fractionering (3, 5 of 6 fracties per week) speelt een rol. Kok vond in zijn patiëntenmateriaal, dat een afwijking van 10% in de dosis reeds een verschillend effect op de tumor heeft [81, 82]. Dit percentage wordt ook door Fletcher [53] op radio-biologische gronden afgeleid. Wil men in de radiotherapie tot dergelijke conclusies

komen, dan zijn een kennis van de exacte dosis en een reproduceerbaarheid van de fractiedosis een dwingende eis. Van de Geijn en Kok [57, 58, 59] hebben wegen aangegeven hoe men onder meer met behulp van een computer tot deze reproduceerbaarheid kan komen. Afgezien van de grote bijdrage van de kwantitatieve celbiologie en de fijne klinische analyses blijven een aantal factoren een rol spelen, waarover zo weinig bekend is, dat de reactie van tumoren op bestraling niet geheel kan worden verklaard. Deze factoren zijn onder meer de samenstelling van het tumorweefsel en de uitgebreidheid van het tumorbed, de zuurstofvoorziening van de tumor, immunologische factoren en de repopulatiesnelheid van overlevende tumorcellen. Reinhold [119] beschrijft in zijn onderzoek verschillende van deze factoren en ook deze auteur wijst op het belang van een fractionering. Het ligt buiten de opzet van dit onderzoek dieper in te gaan op de verschillende aspecten van de celoverleving. Relevant is echter, dat uit de bestudeerde publikaties duidelijk blijkt, dat de fractionering een ander effect heeft dan een eenmalige bestraling.

Samenvattend kan men stellen, dat het mechanisme van het effect van fractionering niet precies bekend is, hoewel de radiobiologie de laatste jaren veel heeft bijgedragen tot een verdieping van het inzicht. Het onderzoek van celoverleving betreft echter vroege effecten, terwijl wij vooral geïnteresseerd zijn in de veranderingen die pas later in het hart en de aorta optreden en waarover het gerefereerde radiobiologische onderzoek pas in combinatie met tot dusver nog in een beginstadium verkerend onderzoek van de proliferatiekinetica der cellen, uitsluitsel zal kunnen geven. Dierexperimenten geven hierover evenmin informatie, omdat het effect van een gefractioneerde bestraling niet of nauwelijks bij proefdieren is onderzocht. Waarom een dergelijk onderzoek ontbreekt is niet duidelijk; mogelijk heeft het aan een goede accommodatie voor zulke langlopende en arbeidsintensieve experimenten ontbroken. Omdat getracht is de klinische situatie zoveel mogelijk te imiteren, werd het ook thans veel gebruikte schema van 5 fracties per week aangehouden.

4. Het aspect van de atherosclerose

De in hoofdstuk I geopperde mogelijkheid dat een preëxistent vaatlijden van invloed zou kunnen zijn op het effect van ioniserende straling op hart en aorta, maakt het nodig nader in te gaan op de atherosclerose bij proefdieren en de mens. Volgens de definitie van de wereldgezondheidsorganisatie [158] is *atherosclerose* een variabele combinatie van veranderingen in de intima van de arteriën, bestaande uit haardsgewijze ophoping van lipiden, polysacchariden, bloed- en bloedprodukten, bindweefsel en kalkneerslag, gepaard gaande met veranderingen in de media. *Arteriosclerose* is een veel meer omvattende term, waaronder worden verstaan alle vaatveranderingen, die gepaard gaan met verharding, met een stugger worden van de vaatwand. *Atherosclerose* is derhalve een vorm van *arteriosclerose*. De *sclerose* van Mönckeberg, waarbij kalk wordt afgezet in de media van arteriën en de *arteriolosclerose*, die zoals

de naam aangeeft beperkt is tot de veranderingen in de arteriolae, is een andere vorm van arteriosclerose [Boyd, 23; Hollander, 69]. Tenslotte wordt onder een *plaque* iedere circumscripte verdikking van de intima verstaan.

Bij de zeer grote hoeveelheid onderzoek, welke over atherosclerose is verricht, zijn verschillende soorten proefdieren gebruikt, waarbij men op diverse wijzen atherosclerose heeft kunnen opwekken, zoals het geven van een cholesterolrijk dieet, verschillende soorten vetten, vitamine D, antithyreotica, hormonen en dergelijke (Bortz c.s. 18; Constantinides c.s., 35, 36, 37, 38; Hoffmeyer, 68; Kesten, 77; MacMillan, c.s. 99; Prior c.s., 115). Bij konijnen zag men na toevoegen van cholesterol aan het voer altijd atherosclerose optreden. Daar zoals eerder is vastgesteld het konijn een geschikt proefdier is voor radiologische experimenten, heeft het zin na te gaan welke gegevens beschikbaar zijn over atherosclerose bij het konijn. Anitschkow [4] heeft op dit gebied intensief onderzoek verricht. Deze auteur heeft bij het met cholesterol gevoederde konijn anatomische veranderingen in de bloedvaten kunnen opwekken, die sterke gelijkenis vertoonden met sommige beelden, zoals die uit de menselijke pathologie bekend zijn. Drie tot vier weken na toevoeging van 0,5 gew.% cholesterol aan het voer van konijnen, zag Anitschkow de bij de menselijke atherosclerose bekende beelden ontstaan, te weten: streepvormige afzetting van lipiden, de zgn. „fatty streaks”, plaquevorming en ulceratie van de aortawand. De veranderingen waren het meest uitgesproken rond de aftakkingen van de arteriën, die uit de aortaboog en de thoracale aorta ontsprongen. Microscopisch werden in de intima, maar ook in de media zogenaamde schuimcellen gezien, die Anitschkow hield voor macrofagen, welke gezwollen zijn door fagocytose van uit het lumen afkomstig cholesterol en zijn verbindingen. Deze stoffen kunnen ook extracellulair in de vaatwand blijven liggen. Het intra- en extracellulaire cholesterol en verbindingen hiervan zouden zowel door middel van diffusie via het endotheel als door de vasa vasorum, die zelf geen afwijkingen vertoonden, worden aangevoerd. Anitschkow verklaart op deze laatste manier het voorkomen van genoemde verbindingen in het buitenste deel van de media van de aorta. Constantinides [34, 36, 37] wees op het belang de proefdieren na een periode van intermitterend toegediend cholesterolrijk dieet lang genoeg in leven te houden, omdat pas na twee of meer jaar het beeld van atherosclerose tot volledige ontwikkeling komt.

Na een korte observatie periode, waarin het cholesterolrijke dieet werd gegeven, ontstonden bij het konijn schuimcelophopingen in de intima. Hierin trof men weinig of geen necrose aan en zelden ulceratie, trombose of verkalking. Deze lesies bevonden zich voornamelijk in de intima en waren niet te vergelijken met de afwijkingen die bij de mens voorkomen. Mede gelet op de ophoping van lipiden in het reticulo-endotheliale systeem, leek het ziektebeeld op xanthomatose van de mens.

Na een langere observatieduur, zoals Constantinides voorstaat, ontstonden lesies, die in principe gelijk waren aan die, welke men in de menselijke pathologie kent, namelijk atheromateuze „abscessen”, ulceratie, kalkafzetting, en trombusvorming. Met zijn resultaten weerlegde Constantinides de opvatting van degenen, die het met

cholesterol gevoederde konijn geen goed model vinden voor een onderzoek van de atherosclerose. Ook anderen steunen hem in deze opvatting [34, 156].

Voor een vergelijkend onderzoek naar atherosclerose zou het voor de hand liggen de aap als proefdier te kiezen om redenen die eerder naar voren zijn gebracht bij het onderzoek naar het effect van ioniserende straling. Er is echter betrekkelijk weinig bekend over atherosclerose bij apen. Het voorkomen van spontane atherosclerose is beschreven bij de doodskopapen, de bavianen en de mantelmangabeys [34], terwijl bij de brulapen het spontaan optreden van afwijkingen aan coronairarteriën is beschreven [101]. Bij 4 van de 14 chimpansees, die werden gebruikt in een studie over poliomyelitis, vond Strong [34] afwijkingen in de vaten, die te vergelijken waren met de „yellow streaks”, die bij de mens worden gezien. Stout en Lemmon [136] verrichtten regelmatig obducties bij dieren, die in een dierentuin waren overleden. Zij vonden atherosclerose van de a. coronaria en de hersenvaten bij oudere rhesusapen. Bij jonge dieren werd zelden of nooit spontane atherosclerose gevonden. Lapin en Yakovleva [87] vonden slechts bij 7 van de 976 in het wild gevangen rhesusapen enige tekenen van coronariasclerose en bij geen van de 33 door Wissler en Vesselinovitch [156] onderzochte rhesusapen werd enige afwijking geconstateerd. Met een vet- en cholesterolrijk dieet is er zeker wel atherosclerose bij deze apesoort gevonden, blijkens het onderzoek van Bruce Taylor [34], die bij 14 van de 15 rhesusapen, die een vet- en cholesterolrijk dieet kregen, deze lesies kon opwekken. Evenals bij de mens werden het eerst aan de aorta, de a. iliaca, de a. carotis en het proximale deel van de a. coronaria afwijkingen aangetroffen.

Het ontbreken van voldoende kennis over de inductie van atherosclerose bij de aap en het geheel ontbreken van enig onderzoek naar de reactie van hart en aorta op ioniserende straling, zijn redenen geweest om een aanvullend onderzoek bij normale apen te verrichten, waarbij geen extra cholesterol aan het voer werd toegevoegd. Indien getracht zou zijn eerst atherosclerose bij de aap op te wekken en daarna de bestraling uit te voeren, zou een veel groter aantal proefdieren nodig geweest moeten zijn. Omdat spontane atherosclerose bij de rhesusaap niet of zelden voorkomt, is deze diersoort gekozen als proefdier om een aanvullend onderzoek te doen over het effect van bestraling op het hart en de aorta. Indien na een gefractioneerde bestraling afwijkingen aan het hart en de aorta worden gevonden, mag men met zekerheid grenzende waarschijnlijkheid concluderen, dat de lesies zijn veroorzaakt door de bestraling en niet „spontaan” zijn opgetreden.

Ofschoon wij slechts de morfologische beelden bij ons onderzoek willen evalueren en niet de pretentie hebben in te gaan op de pathogenese van de atherosclerose, heeft het toch zin kennis te nemen van de verschillende wijzen van onderzoek, die hierbij worden toegepast. Van Böttcher c.s. [19, 20, 21, 22] is het onderzoek bekend om door middel van chemische analyse van atheromateuze vaten een inzicht te krijgen in de genese van de atherosclerose. Ahrens c.s. [1], MacMillan c.s. [99, 100] en Thomasson [142] zien na het gebruik van verschillende soorten

lipiden, in wisselende mate atherosclerose optreden. De aanwezigheid van verzadigde vetzuren is een factor, die het ontstaan van de vaatafwijkingen bevordert. Rossi e.a. [122] hebben aangetoond, dat er een evenredigheid bestaat tussen de hoeveelheid mucopolysacchariden in de vaatwand en het optreden van atherosclerose. Naarmate de hoeveelheid mucopolysacchariden in de vaatwand groter is, is er meer kans op het optreden van atherosclerose. De Bruijn [27] beschrijft naar aanleiding van een elektronenmicroscopisch onderzoek over de pathogenese van atherosclerose van de konijnenaorta, dat hij zowel in als buiten de endotheelcellen lipiden bevattende vacuolen aantrof en dat de minimale vaatwandbeschadigingen, die grotendeels bestaan uit extracellulair gelegen, kleine lipidevacuolen opgevat moeten worden als ontwikkelingsstadia van de macroscopisch waarneembare, meer uitgebreide vaatwandbeschadigingen.

Het valt buiten het kader van dit onderzoek om zelfs maar een vluchtig overzicht te geven van de enorme hoeveelheid literatuur en de daarin voorkomende divergerende meningen over de relatie tussen voeding en atherosclerose [28, 29, 41, 159]. Men kan slechts constateren dat „de” pathogenese van de menselijke atherosclerose evenals die van het proefdier nog onbekend is. Slechts over het morfologisch aspect begint er eenheid van mening te ontstaan. Ten aanzien van de etiologie is er veel verschil van mening, die zich uit in een aantal theorieën, waarvan wij slechts de belangrijkste zullen refereren. Het onderzoek waarvoor Anitschkow de basis legde, heeft geleid tot wat men de *imbibitietheorie* noemt. Volgens deze hypothese dringen het cholesterol en zijn verbindingen vanuit het lumen de vaatwand binnen en „imbiberen” de intima en het binnenste deel van de media. Vanuit de vasa vasorum komen lipidenachtige verbindingen in de diepere lagen van de media. Vanwege de plasmogene ontstaanswijze spreekt men ook wel van humorale pathogenese. Een andere hypothese is de *haemodynamische of mechanische theorie*, die de nadruk legt op druk- en stroomveranderingen en die wordt gesteund door enkele klinische feiten. Het ontstaan van atherosclerose wordt door hypertensie begunstigd en men treft zelfs bij kinderen uitgebreide en zeer vroegtijdige vaatafwijkingen aan bij een phaeochromocytoom, dat de hypertensie veroorzaakt. De invloed, die de bij het phaeochromocytoom vrijkomende nor-adrenaline uitoefent, is mogelijk bij de haemodynamische etiologie een belangrijke factor. In dit verband zij opgemerkt, dat *hormooninvloeden* en *enzymprocessen* ook als oorzaak zijn genoemd voor het ontstaan van atherosclerose. Vrouwelijke hormonen zouden een remmende invloed hebben op het afzetten van lipiden in de vaatwand en er toe bijdragen dat geen atherosclerose optreedt. Lindsay c.s. [96] en Mikulaskova c.s. [105] tonen aan, dat deze opvatting in haar algemeenheid niet juist is. Bij myxoedeem wordt vaak atherosclerose gezien. Het is niet zonder meer te zeggen of het thyroxinegebrek als zodanig hiervoor aansprakelijk moet worden gesteld of dat hypercholesterolemie de oorzakelijke factor is [132]. Een andere opvatting is de *trombogene theorie* van Duguid en Robertson [46], die zich de pathogenese van de atherosclerose als volgt voorstellen. Op de vaatwand ontstaan kleine trombi, die snel over-

dekt worden door endotheel. De trombusmassa die hierdoor deel van de vaatwand is geworden, gaat in verval en vervloeit. Een deel van de afvalprodukten blijft liggen, zoals lipoproteïnen, cholesterolkristallen en ceroiden, om enkele te noemen. Deze stoffen zijn volgens hun zienswijze dus niet door imbibitie vanuit het vaatlumen ontstaan, doch in de wand zelf gevormd door verval van een in de wand geïncorporeerde trombus.

Hoewel het, ondanks het vele onderzoek dat reeds verricht is, niet zeker is welk mechanisme aan het optreden van atherosclerose ten grondslag ligt, staat het vast, dat er na het geven van cholesterolrijk dieet bij het konijn beelden ontstaan die vergelijkbaar zijn met die, welke men uit de menselijke pathologie kent. Het leek dan ook verantwoord het onderzoek over het effect van bestraling op hart en aorta bij het normale proefdier uit te breiden met een onderzoek naar een dergelijk effect bij konijnen, waarbij tevoren door middel van cholesterol atherosclerose is opgewekt.

5. Opzet en vraagstelling

1. Uit de menselijke pathologie zijn afwijkingen aan het hart en de bloedvaten bekend na behandeling van intrathoracaal gelegen processen met ioniserende straling.
2. Men kan echter niet tot een dosis-effectrelatie besluiten, omdat de dosimetrie veelal ontbreekt en er geen systematisch onderzoek bij de mens heeft plaatsgevonden. Voor zover dit wel het geval is, kan men de invloed van tumorgroei in hart en vaten, de begeleidende anemie, de infectie en de ondervoeding niet evalueren.
3. Bij dierexperimenten werd de bestraling meestal eenmalig gegeven en in enkele gevallen met meer fracties, maar nooit op een wijze en tot doses zoals deze in de radiotherapie gebruikelijk zijn. De fractionering is echter een belangrijke factor, hetgeen niet alleen uit de klinische empirie blijkt, maar ook uit de resultaten van celoverlevingsstudies na eenmalige en gefractioneerde bestraling in de radiobiologie.
4. Daar bestraling van intrathoracaal gelegen processen veelal plaatsvindt bij oudere patiënten, waarbij men mag aannemen, dat dikwijls atherosclerose aanwezig zal zijn, is het noodzakelijk bij het onderzoek hiermee rekening te houden.
5. Het konijn kan als geschikt proefmodel dienen bij het onderzoek naar het effect van ioniserende straling op hart en aorta. Enerzijds zijn er bij dit goedkope en goed hanteerbare proefdier al veel gegevens uit radiologische experimenten bekend, anderzijds is het een goed model voor een vergelijkende studie van atherosclerose.
6. Omdat er twijfel zou kunnen bestaan of de te vinden afwijkingen bij het konijn mogen worden vergeleken met die bij de mens, is het onderzoek uitgebreid met proeven bij een aantal normaal gevoederde rhesusapen.

7. De aap staat als primate zo dicht bij de mens, dat een extrapolatie van de bij de aap verkregen afwijkingen op die van de mens meer verantwoord lijkt.
8. Teneinde de klinische situatie zo goed mogelijk te evalueren, werd niet alleen het effect van een totale dosis van 6000 R onderzocht, maar ook lagere doses, omdat het hart en de aorta niet altijd in hetzelfde hoge-dosisgebied liggen en daarom een geringere exposie kunnen ontvangen dan de tumor.
9. Omdat een systematisch onderzoek van een gefractioneerde bestraling op hart en aorta ontbreekt, werd het zinvol geacht het onderzoek te doen met 5 fracties per week.
10. Samenvattend luidt de vraagstelling van dit onderzoek:
 - A. Welke zijn de afwijkingen aan het hart en de aorta van het konijn en van de rhesusaap, veroorzaakt door röntgenbestraling, toegediend in gefractioneerde doses tot een totale haarddosis, zoals in de radiotherapie gebruikelijk is?
 - B. Wordt het eventueel effect van röntgenbestraling op het hart en de aorta van het konijn beïnvloed door het al of niet bestaan van een preëxistent vaatlijden?

HOOFDSTUK II

1. Proefopstelling bij het konijn in experiment I en II

Experiment I

Aanvankelijk stonden ter beschikking 44 mannelijke, 6 maanden oude konijnen, een kruising van Witte Wener en Alaska, beide afkomstig uit een gesloten kolonie. Het gewicht bedroeg gemiddeld 2250 g.

Onder een gesloten kolonie verstaat men een groep dieren, die verkregen is door een kruising van individuen van hetzelfde ras, waarbij echter nooit broer en zuster als ouderpaar zijn gebruikt. Er wordt hierdoor een vrij uniform nageslacht verkregen, waarbij de kans, dat er overgevoeligheid bestaat voor bepaalde invloeden aanzienlijk kleiner is, dan bij inteelt.

De exemplaren werden aselekt genummerd en verdeeld in 2 groepen, die respectievelijk geen en wel cholesterol in het standaardvoer kregen. Uit ieder van deze 2 groepen werd een aantal dieren gebruikt als controle, terwijl de overige exemplaren werden onderverdeeld in groepen, die respectievelijk 2000 R, 4000 R en 6000 R haarddosis op hart en aorta ontvingen. Een overzicht van dit experiment I vindt men in tabel III. Dat bij het onderzoek naar het effect van de combinatie cholesterolvoeding en bestraling meer proefdieren zijn gebruikt dan bij het onderzoek naar het effect van de gefractioneerde bestraling alleen, vindt zijn oorzaak in het feit, dat wij zeker wilden zijn van voldoende gegevens uit de cholesterol-geïnduceerde atherosclerosegroep.

Tabel III. Groepsindeling van experiment I.

De getallen in deze tabel geven de verdeling aan van het aantal mannelijke konijnen wat betreft de bestraling met verschillende haarddoses en de cholesterolvoeding.

	standaard voer	standaard voer met 0,2 gew.% cholesterol
onbestraald	3	8
2000 R	3	8
4000 R	3	8
6000 R	3	8

Experiment II

Toen na obductie van de in experiment I gebruikte konijnen bleek, dat zich weliswaar uitgebreide aortawandveranderingen hadden voorgedaan, doch dat de uitgesproken plaquevorming die ons onder andere bekend was uit het onderzoek van Thomasson

Tabel IV. Groepsindeling van experiment II.

De getallen in deze tabel geven de verdeling aan van het aantal vrouwelijke konijnen wat betreft de bestraling en de cholesterolvoeding.

	standaard voer	standaard voer met 0,5 gew.% cholesterol
onbestraald	8	8
5000 R	8	16

[143] niet werd gevonden, werd een tweede experiment gedaan. Hiervoor konden 40, ongeveer 1 jaar oude, vrouwelijke konijnen van het ras Hollander worden gebruikt met een gewicht van gemiddeld 4000 g. De opstelling van de aselekt verdeelde exemplaren is weergegeven in tabel IV. Later zal worden toegelicht waarom in experiment II een ander geslacht werd gebruikt en het percentage cholesterol in het voer werd verhoogd. Bij de bestraalde exemplaren van deze groep werd slechts één haarddosis van 5000 R in 4 weken gegeven, omdat na de bestraling van de groep mannelijke konijnen van experiment I was gebleken, dat de sterkste afwijkingen werden gevonden bij de hoog gedoseerde individuen en dat er een positieve dosis-effectrelatie bestond.

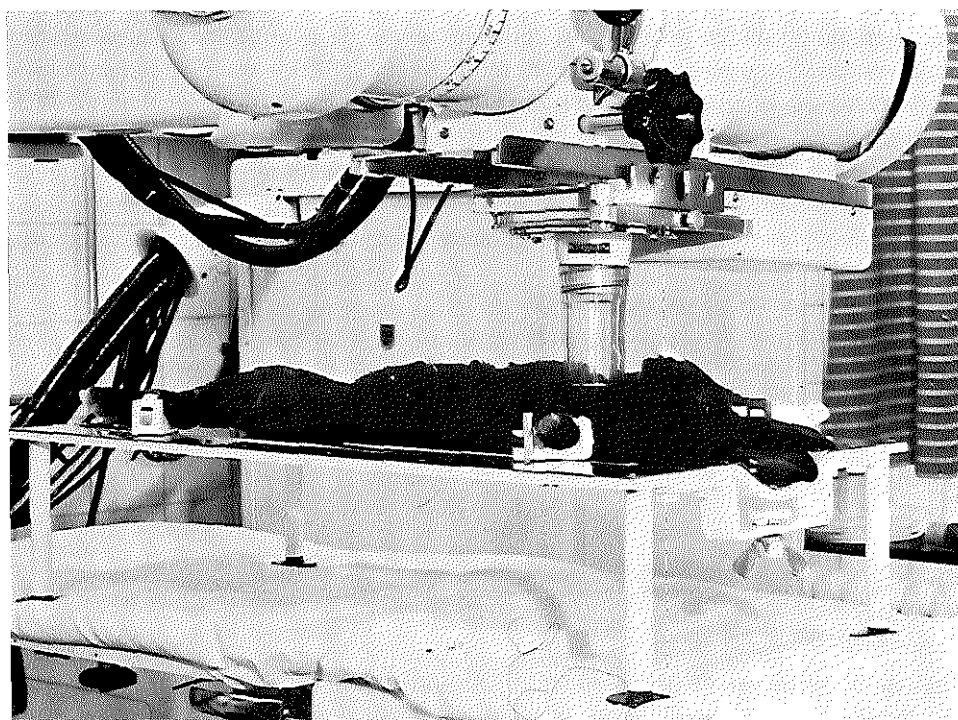


Fig. 1. Opstelling bij de bestraling van het ventrale veld in experiment I en II.

Dosimetrie

Voor de bestraling werd in experiment I en II een Philips 250 R.T. apparaat gebruikt met een anodespanning van 250 kV, een stroomsterkte van 15 mA en een gecombineerd filter van 2 mm Cu en 1 mm Al, resulterend in een h.v.d. (halveringsdikte) van 2,2 mm Cu. De ligging van het hart en de thoracale aorta werd nagegaan door zorgvuldige obductie van enige konijnen en aan de hand van instelfoto's met tubes van verschillend oppervlak. Hierbij bleek, dat bij een rond veld met een diameter van 4 cm, zowel hart, aortaboog als thoracale aorta ruim in het bestralingsveld lagen, terwijl de longen voor het overgrote deel buiten de stralenbundel vielen. Na enige oefening bleek, dat de instelling goed te reproduceren was door de uitwendig voelbare ictus cordis als referentiepunt te gebruiken. Wat betreft de dosisberekening kan gebruik worden gemaakt van tabellen voor terugstrooiing en relatieve dieptedosis, zoals deze door Wachsman en Dimotsis [148] zijn samengesteld. Als bezwaar tegen de op deze wijze berekende dosis kan echter worden aangevoerd, dat de tabellen slechts voor theoretisch bestaande lichamen gelden (men spreekt in de radiologie van een zogenaamd oneindig fantoom) en men bij de opstelling zeker rekening zal moeten houden met een niet te verwaarlozen en evenmin te berekenen hoeveelheid terugstrooiing, veroorzaakt door de metalen bodem van de spantafel, die tevens als be-

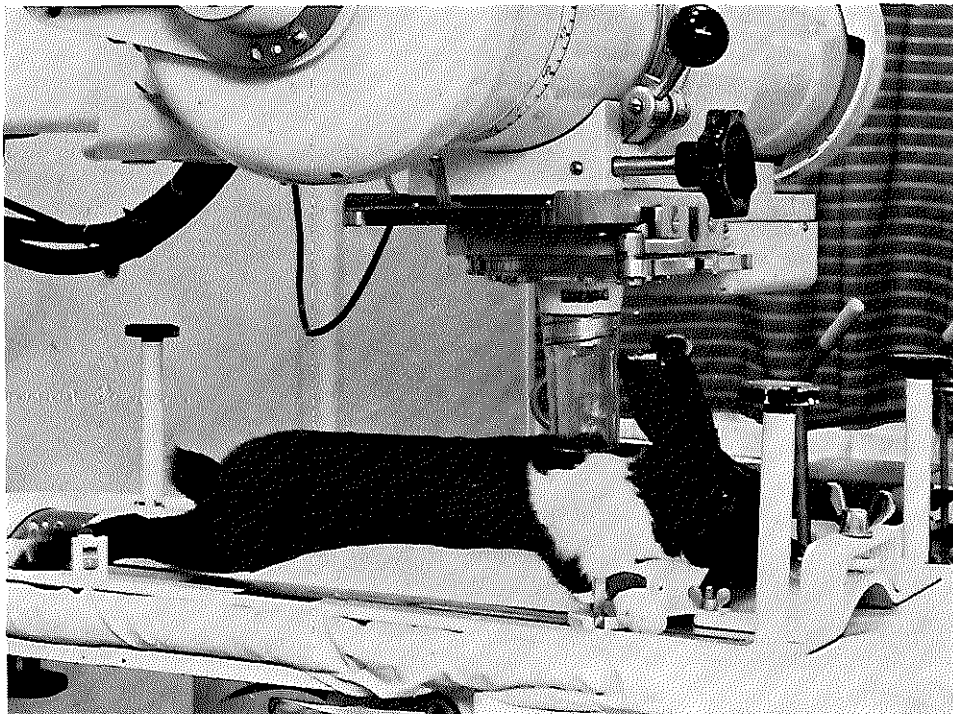


Fig. 2. Opstelling bij de bestraling van het dorsale veld in experiment I en II.

stralingstafel zou worden gebruikt. Het is een dergelijke situatie nodig door middel van fantoommeting tot een inzicht in de dosisverdeling te komen. Hierbij moet de opstelling gelijk zijn aan die van het experiment zelf. De konijnen werden bestraald vanuit een ventraal veld, waarbij de rug rustte in een gleuf van de metalen spantafel en vanuit een dorsaal veld, waarbij de spantafel werd omgekeerd ten einde een betere fixatie van het op de buik liggend proefdier te krijgen, omdat de gleuf dan als convexe richel omhoog komt (fig. 1 en 2).

Bij de dosimetrie werd gebruik gemaakt van een zogenaamd masonietfantoom. Dit is een blok masoniet met een s.g. 1, dat weefselequivalent is en daarom dikwijls bij onderzoek naar de dosisverdeling wordt toegepast. De dikte hiervan bedroeg 8 cm, overeenkomstig de afstand tussen ventrale en dorsale thoraxwand van de gebruikte konijnen. Ondanks het verschil in gewicht van de groepen mannelijke en vrouwelijke konijnen, bleek de voor-achterwaartse afmeting nagenoeg dezelfde te zijn bij de dieren uit experiment I en II. Als de ventro-dorsale afmeting groter was dan 8 cm, kon deze door lichte compressie van de bestralingstube tot 8 cm worden teruggebracht. Een geringere voor-achterwaartse afmeting dan 8 cm kwam niet voor. De gleuf van de spantafel werd bij de meting van het masonietfantoom opgevuld met rijstbolus, waar-

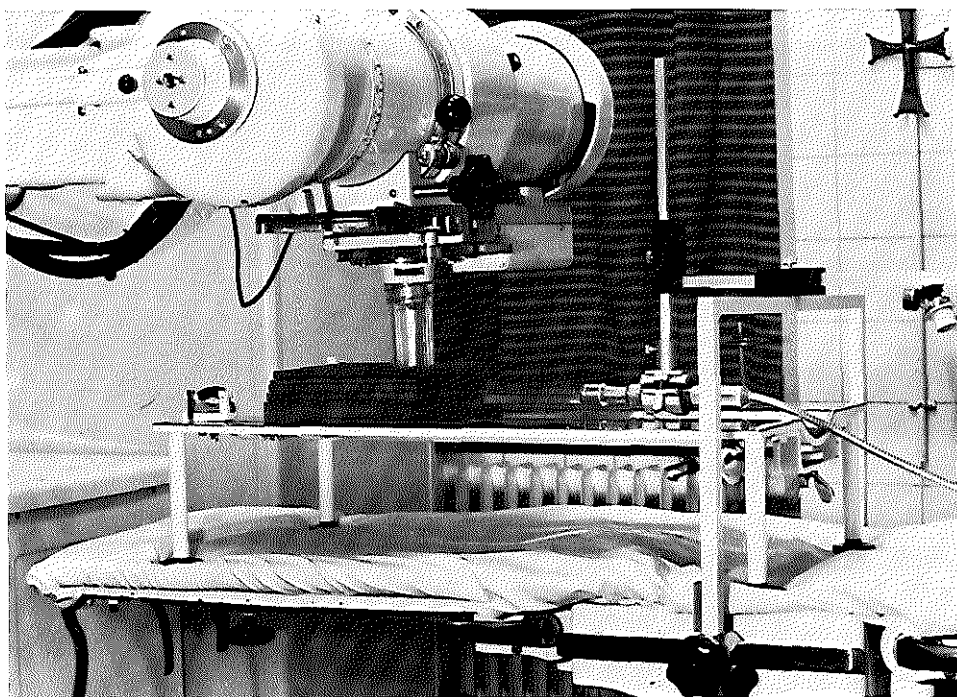


Fig. 3. Opstelling van het masonietfantoom en de meetkamer ter berekening van de in tabel Va weergegeven dieptedosisverdeling.
De spantafel staat in de normale stand (vgl. fig. 1).

van men mag aannemen, dat het bij benadering voor röntgenstraling weefselequivalent is. De platen masoniet immers kunnen de geul van de spantafel niet opvullen, hetgeen wel gebeurt door de weke delen van het opgespannen konijn, waarbij echter de afstand van het te bestralen buikveld tot het vlakke deel van de spantafel 8 cm blijft, zodat men aan de meting van het masonietfantoom reële betekenis moet toekennen. De metingen werden verricht met een „Bomke-dosimeter” en een meetkamer, behorend bij de te gebruiken stralenkwaliteit. Tabel Va laat de relatieve doses op verschillende diepten zien bij de meetopstelling, zoals in fig. 3 is weergegeven en die gelden voor de bestraling van het ventrale veld. In tabel Vb zijn de relatieve dieptedoses opgegeven, die werden gevonden bij de meetopstelling volgens fig. 4 en die betrekking hebben op de bestraling van het dorsale veld. Het terugstrooiingseffect van de spantafel blijkt duidelijk uit de geringe dosisafval op de diepte van 6, 7 en 8 cm, zoals in de tabellen Va en Vb is te zien.

Het was ons inmiddels uit oriënterende proeven bekend, dat een dagelijkse haardosis van ruim 400 R per dag gedurende 2 weken goed door het konijn werd verdragen, zodat er geen vrees behoefde te bestaan, dat te veel proefdieren vóór het beëin-

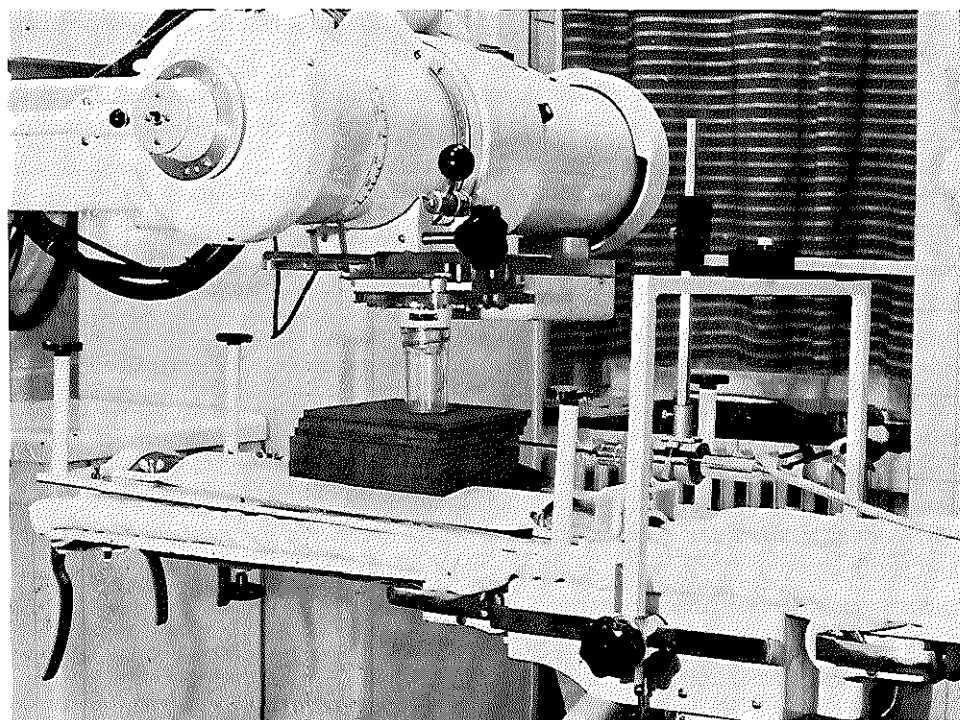


Fig. 4. Opstelling van het masonietfantoom en de meetkamer, ter berekening van de in tabel Vb weergegeven dieptedosisverdeling.
De spantafel is omgekeerd (vgl. fig. 2).

	Tabel Va. Relatieve dieptedoses in het masonietfantoom gemeten voor de bestraling van het konijn in rugligging (vgl. fig. 3).	Tabel Vb. Relatieve dieptedoses in het masonietfantoom gemeten voor de bestraling van het konijn in buikligging (vgl. fig. 4).
diepte in het fantoom	relatieve dieptedosis	relatieve dieptedosis
oppervlakte	100	100
1 cm	91	91
2 cm	79	82
3 cm	64	66
4 cm	57	57
5 cm	45	45
6 cm	41	36
7 cm	41	32
8 cm	34	39

digen van de bestraling zouden overlijden bij het toepassen van gelijke fractiedoses van 200 R.

Op grond van de gemeten dieptedosis en van de bovengenoemde beschouwing van de te verdragen haarddosis, werd besloten de proefdieren van experiment I op een ventraal en dorsaal veld te bestralen met een exposie van 200 R per veld in lucht gemeten, overeenkomend met een haarddosis van 240 R per keer. Er werd op 5 achtereenvolgende dagen per week bestraald. Alle bestraalde konijnen van experiment II ontvingen een fractie van 300 R haarddosis, eveneens op 5 achtereenvolgende dagen per week, tot een totale haarddosis van 5000 R.

Tenslotte werd nog een andere methode van dosismeting toegepast, namelijk de directe meting door middel van een meetkamer, ingebracht in de oesophagus, ter hoogte van het hart. Daarvoor werden de Philips dosimeter, type 37471/00 en de daarbij behorende in een rubber sonde ingebouwde ionisatiekamer gebruikt. De ligging van de meetkamer werd door middel van instelfoto's gecontroleerd. Bij een dosis van 200 R in lucht op een ventraal en op een dorsaal veld, werd een totale haarddosis van 256 R gemeten. Deze waarde komt fraai overeen met 240 R volgens de meting van het masonietfantoom. De laatste waarde van 240 R haarddosis werd bij de bestraling van de proefdieren in experiment I aangehouden. De konijnen van experiment II ontvingen een evenredig langere exposie tot een haarddosis van 300 R per fractie. De gebruikte focus-huidafstand (f.h.a.) bedroeg 30 cm, een afstand, die lang genoeg is om een gunstige invloed op de dosisverdeling in de diepte te hebben en kort genoeg om de bestralingstijden niet te langdurig te maken.

Cholesterolvoeding

Aan het standaardvoer voor de betreffende groepen in experiment I werd 0,2 gew.% cholesterol toegevoegd. Bij een gemiddelde consumptie van 30 g voer per dag, werd op deze wijze 0,16 g cholesterol per dag toegediend. Anitschkow gaf bij zijn experiment 0,5 g cholesterol per dag, hetgeen overeenkomt met $\pm 0,6$ gew.%. De keuze van

het percentage dat bij ons experiment is gebruikt, werd voornamelijk bepaald door een persoonlijke mededeling van Thomasson, die bij vrouwelijke konijnen een uitgesproken atherosclerose waarnam na het toedienen van 0,2 gew.% cholesterol aan het standaardvoer. De afwijkingen zag Thomasson 3 à 6 weken na het begin van de cholesterolvoeding optreden, een termijn die ook in de literatuur wordt genoemd [4, 142]. Pas na deze periode zou het serum-cholesterolgehalte een maximale spiegel hebben bereikt. In onze experimenten werd om de 2 à 5 weken het serum-cholesterolgehalte bepaald volgens de gewijzigde methode van Zlatkis en Zak, beschreven door Gorter en De Graaff [63]. Het bloed werd verkregen uit de oorvene.

Fig. 5 laat de grafisch uitgezette gemiddelde serum-cholesterolwaarden van de

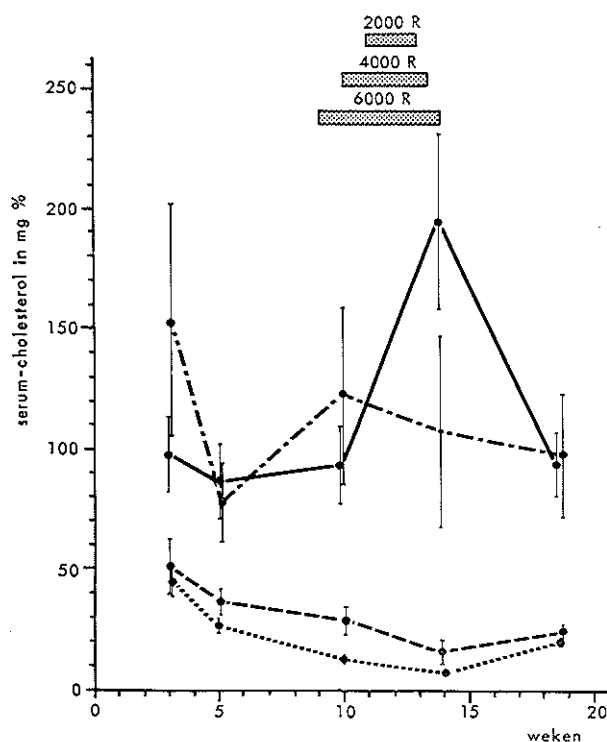


Fig. 5. Het verloop van het gemiddelde serum-cholesterolgehalte voor de groepen mannelijke konijnen van experiment I.

Op de X-as komt het aantal weken overeen met de cholesterolvoeding van de respectievelijke groepen en de duur van het experiment. De verticalen geven de standaardafwijking aan, berekend volgens de formule

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

- normaal gevoederd, onbestraald;
- — — normaal gevoederd, bestraald;
- - - - 0,2 gew.% cholesterolvoer, onbestraald;
- 0,2 gew.% cholesterolvoer, bestraald.

verschillende groepen mannelijke konijnen zien. Er is bij deze serie proefdieren door onvoorziene omstandigheden geen cholesterolbepaling verricht vóór de aanvang van de periode van cholesterolvoeding. De bestraling bleek geen significant effect te hebben op het cholesterolgehalte van de normaal gevoederde dieren, noch van die welke extra cholesterol kregen toegediend. Opmerkelijk waren de sterk wisselende individuele schommelingen van het cholesterolgehalte, waardoor de grote standaarddeviatie wordt veroorzaakt. Hoffmeijer [68] heeft dit reeds waargenomen. Experimentele factoren kunnen ons inziens uitgesloten worden omdat de bloedafname op hetzelfde tijdstip voor de ochtendvoeding plaatsvond onder gelijke omstandigheden. De initiële daling van de cholesterolspiegel werd bij alle groepen in experiment I waargenomen, zonder aanwijsbaar verband met de eventuele cholesterolvoeding. Deze waarnemingen leidden tot de hypothese, dat bij het jonge konijn onder normale omstandigheden een hoge cholesterolspiegel voorkomt, waarop een fysiologische daling volgt naarmate het dier ouder wordt en de volwassen leeftijd bereikt. In onze proeven is de cholesterolvoeding blijkbaar niet voldoende om zo'n fysiologische daling tegen te gaan. De relatief hoge spiegels kunnen verband houden met de moedermelk, die bij deze herbiforen gedurende de eerste weken het voornaamste voedsel is. Om na te gaan of de gevonden hoge serumwaarden een bijzonderheid waren van de bij proef I gebruikte hybriden uit de gesloten kolonie, hebben wij bij een 5-tal willekeurige konijnen van andere rassen en ongeveer 4 maanden oud, cholesterolbepalingen gedaan. Daarbij werden ook hoge waarden gevonden, variërend van 275 tot 300 mg%.

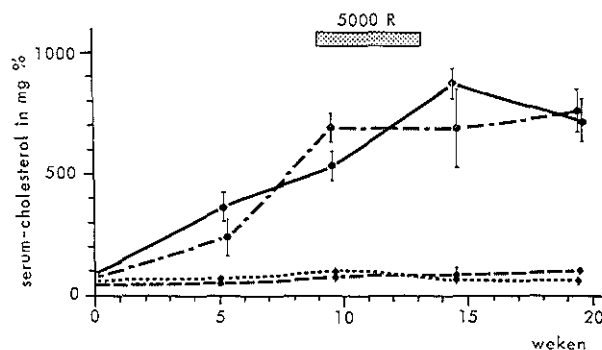


Fig. 6. Het verloop van het gemiddelde serum-cholesterolgehalte voor de groepen vrouwelijke konijnen van experiment II.

Op de X-as komt het aantal weken overeen met de cholesterolvoeding van de respectievelijke groepen en de duur van het experiment.

De verticale geven de standaardafwijkingen aan, berekend volgens de formule

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

..... normaal gevoerd, onbestraald;

— — — normaal gevoerd, bestraald;

- - - 0,5 gew.% cholesterolvoer, onbestraald;

- · - · 0,5 gew.% cholesterolvoer, bestraald.

De veronderstelling dat de relatief hoge cholesterolspiegels in het bloed door moedermelk worden veroorzaakt, vindt steun in enige mededelingen van Bragdon[24] en Cohrs c.s. [33]. Deze auteurs beschrijven het voorkomen van lipoidafzetting in de intima en soms in de binnenste laag van de media bij jonge konijnen, die nog met moedermelk worden gevoed. Deze lipoidafzetting verdwijnt als de ± 8 weken oude konijnen van moedermelk op het gebruikelijke vaste plantaardige voedsel over gaan.

Ten einde de initiële daling van de serum-cholesterolspiegel te vermijden, werden in experiment II exemplaren gebruikt van ongeveer 1 jaar oud. Het gewichtspercentage cholesterol in het voer werd verhoogd van 0,2 tot 0,5 g% en besloten werd in analogie van het door Thomasson verrichte onderzoek vrouwelijke konijnen te gebruiken.

Ook bij dit tweede experiment werd om de 2 à 5 weken het serum-cholesterolgehalte bepaald, waarbij de eerste bepaling werd gedaan bij het begin van het experiment. Men ziet in tegenstelling tot de bevinding bij de jonge mannelijke konijnen geen initiële daling van het cholesterolgehalte, doch vrijwel constante waarden van ongeveer 60 mg% bij de niet met cholesterol gevoederde individuen (fig. 6). De cholesterolspiegel van de met 0,5 g% cholesterol gevoederde vrouwelijke konijnen ligt beduidend hoger dan die, van de met 0,2 g% cholesterol gevoederde mannelijke exemplaren en men vindt na enige weken reeds waarden van 700 à 800 mg% bij de eerst genoemde tegen 100 à 200 mg% bij de normaal gevoederde konijnen. Ook bij deze proefopstelling was er geen effect van de bestraling op het cholesterolgehalte van het bloedserum.

Verloop van het experiment I en II

Om een objectieve maatstaf te hebben voor de algemene toestand van de proefdieren werden regelmatig het lichaamsgewicht en het haemoglobinegehalte bepaald. Fig. 7 en fig. 8 geven de gemiddelde waarde aan van de *alkalische haematine*, die werden gevonden bij de verschillende groepen mannelijke en vrouwelijke konijnen. Men mag op grond van deze bepalingen stellen, dat er zich tijdens het experiment geen veranderingen in het haemoglobinegehalte hebben voorgedaan die van invloed zouden kunnen zijn op het verkregen resultaat.

Wat betreft de *lichaamsgewichten* waren er tijdens de proef wel veranderingen opgetreden, die het meest uitgesproken waren bij de mannelijke konijnen en die grafisch weergegeven zijn in fig. 9a en 9b. Na aanvankelijke gewichtsstijging van alle groepen trad er een gewichts daling op bij de bestraalde exemplaren, die verklaard kan worden door de anorexie ten gevolge van de bestraling. In deze periode van gewichts daling kwam het voor, dat de bestraalde dieren niet hun dagelijks rantsoen voedsel opaten. Een gewichts daling werd bij de vrouwelijke konijnen tijdens de bestraling niet gevonden. Wel verloopt de gewichtstoename van de bestraalde groepen iets minder steil, zoals in fig. 10a en 10b is te zien.

Een *huidreactie* van de bestraalde exemplaren was zelfs bij de hoog gedoseerde groepen nauwelijks waarneembaar. Er was slechts een lichte haaruitval in het bestraalde gebied.

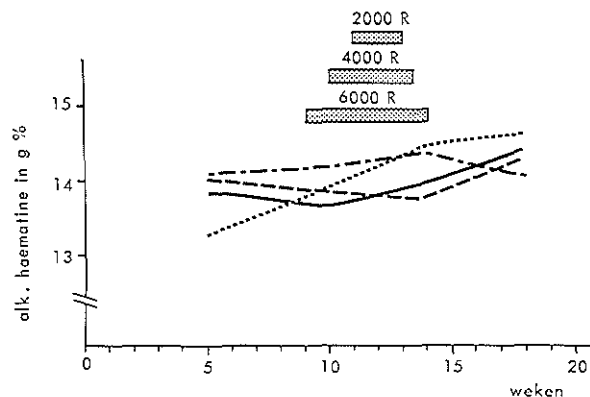


Fig. 7. Het verloop van de gemiddelde alkalische haematine voor de groepen mannelijke konijnen van experiment I.

Op de X-as komt het aantal weken overeen met de cholesterolvoeding van de respectievelijke groepen en de duur van het experiment. De bepaling vond plaats in de 5e, 10e, 13e en 18e week.

- normaal gevoederd, onbestraald;
- normaal gevoederd, bestraald;
- .-.-.- 0,2 gew.% cholesterolvoer, onbestraald;
- 0,2 gew.% cholesterolvoer, bestraald.

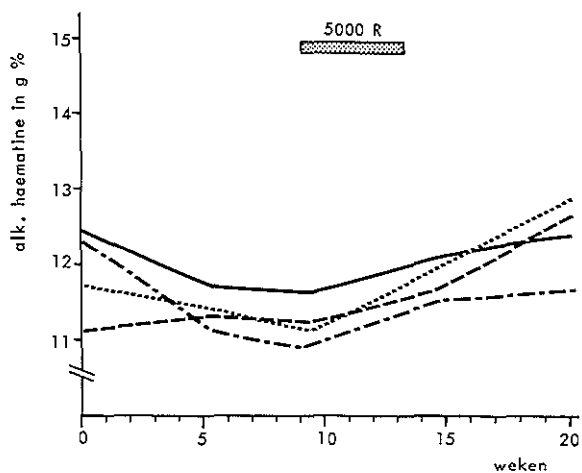


Fig. 8. Het verloop van de gemiddelde alkalische haematine voor de groepen vrouwelijke konijnen van experiment II.

Op de X-as komt het aantal weken overeen met de cholesterolvoeding van de respectievelijke groepen en de duur van het experiment. De bepaling vond plaats in de 1e, 5e, 9e, 15e en 19e week.

- normaal voer, onbestraald;
- normaal voer, bestraald;
- .-.-.- 0,5 gew.% cholesterolvoer, onbestraald;
- 0,5 gew.% cholesterolvoer, bestraald.

Bij de groepen, die met cholesterol gevoederd werden, moest men zich rekenschap geven van het tijdstip, waarop met de bestraling kon worden begonnen, omdat wij deze wilden geven op door atherosclerose veranderd weefsel. Uit de literatuur is bekend, dat 3 à 6 weken na het begin van de cholesterolvoeding er macroscopisch zichtbare atherosclerose optreedt [4, 142, 143]. Ten einde de kans te vergroten op een volledig ontwikkelde atherosclerose ten tijde van de bestraling, werd hiermee niet eerder begonnen dan 8 weken na het begin van de cholesterolvoeding. Het tijdstip

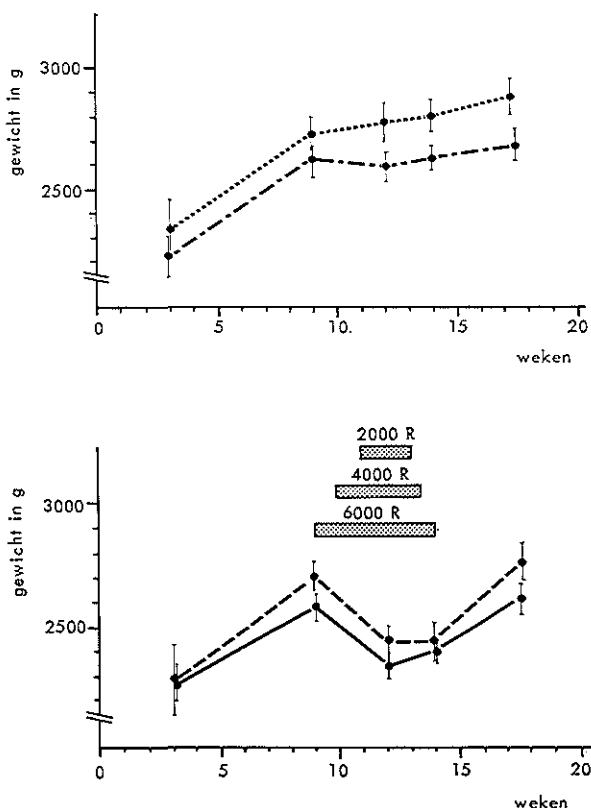


Fig. 9a en b. Het verloop van het gemiddelde gewicht voor de groepen mannelijke konijnen van experiment I.

Op de X-as komt het aantal weken overeen met de cholesterolvoeding van de respectievelijke groepen en de duur van het experiment. De verticalen geven de standaardafwijking aan, berekend volgens de formule

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

- normaal gevoederd, onbestraald;
- normaal gevoederd, bestraald;
- .-.-.-.- 0,2 gew.% cholesterolvoer, onbestraald;
- 0,2 gew.% cholesterolvoer, bestraald.

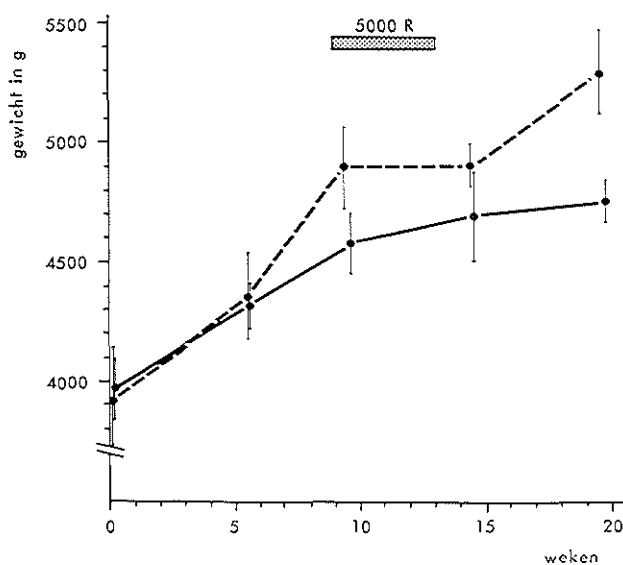
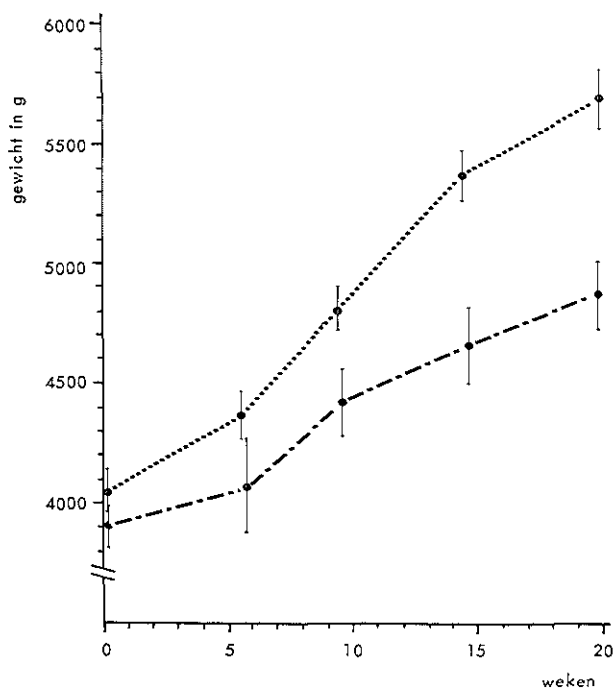


Fig. 10a en b.
Het verloop van het gemiddeld gewicht voor de groepen vrouwelijke konijnen van experiment II.

Op de X-as komt het aantal weken overeen met de cholesterolvoeding van de respectievelijke groepen en de duur van het experiment. De verticalen geven de standaardafwijking aan, berekend volgens de formule

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

- normaal gevoerd, onbestraald;
- normaal gevoerd, bestraald;
- . - . . 0,5 gew.% cholesterolvoer, onbestraald;
- 0,5 gew.% cholesterolvoer, bestraald.

van de obductie werd bepaald op 6 weken na de laatste bestraling, enerzijds uit overwegingen van radiobiologische aard – na deze periode worden de vroege en reversibele veranderingen niet meer aangetroffen en is de kans op blijvende of late beschadiging groter – anderzijds om het experiment tijdig te kunnen beëindigen. De totale duur van deze proeven werd zodoende 20 weken. Fig. 11 laat schematisch de tijdsindeling van de proeven met konijnen zien. De cholesterolvoeding werd gedurende het gehele verloop van de proef aan de daarvoor bestemde groepen gegeven. De obductie vond na decapitatie bij alle dieren plaats in de 21ste week.

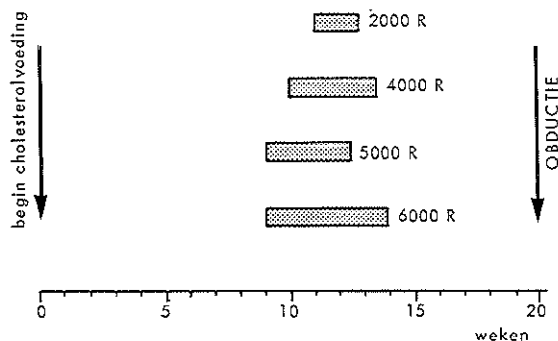


Fig. 11. Schema van de totale duur van het konijnenexperiment.

De perioden van de bestraling van de verschillende groepen zijn aangegeven.

De 44 mannelijke konijnen van experiment I hebben allen de proef overleefd.

Van de groep van 40 vrouwelijke dieren uit experiment II zijn 3 exemplaren vóór het einde van de proef overleden. Een exemplaar, behorend tot de normaal gevoederde en met 5000 R haarddosist bestraalde groep, werd 10 dagen vóór de vastgestelde sectie dood in de kooi aangetroffen. Bij obductie werd vocht in de pleura- en peritoneaalholte gevonden en er bestond een zeer uitgebreide, aspecifieke fibrineuze pericarditis. Deze bevindingen zullen later worden geanalyseerd. Een ander met cholesterol gevoerd exemplaar overleed op het tijdstip, dat van de voorgenomen 5000 R slechts 1650 R was geapliceerd. Macroscopisch werden er geen afwijkingen gevonden, doch bij microscopisch onderzoek bleken er necrosehaarden in de hartspier met een kleincellig, in hoofdzaak lymfocytair infiltraat te bestaan. Er werd kraakbeen gezien op de overgang van annulus fibrosus en linker ventrikel, een bevinding waaraan pathologische betekenis mag worden toegekend en op welk voorkomen Hueper [70] reeds heeft gewezen. Ook op dit beeld wordt later verder ingegaan. In de proefopstelling werd het exemplaar door een nieuw konijn vervangen. Een derde met cholesterol gevoerd en bestraald dier overleed spontaan op de dag vóór de voorgenomen obductie. Er werd behalve vochtophoping in de pleura – en peritoneaalholte een slap uitgezet hart gevonden. In de wand van de linker ventrikel waren enige bleke haarden te zien, die bij microscopisch onderzoek berusten op gedeeltelijk reeds verbind-

weefselde necrosehaarden in de hartspier. Enkele vertakkingen van de coronairarteriën waren vernauwd of geheel afgesloten en er was een uitgebreide atheromateuze verdikking van de aortawand.

2. Proefopstelling bij de rhesusaap

In een poging om tot een betere evaluatie van de betekenis voor de kliniek van de bij het konijn verkregen gegevens te komen, werd het nuttig geoordeeld de proeven aan te vullen met een onderzoek bij apen. Daartoe hadden wij de beschikking over 2 mannelijke en 4 vrouwelijke rhesusapen, ongeveer 2 jaar oud, met een gemiddeld

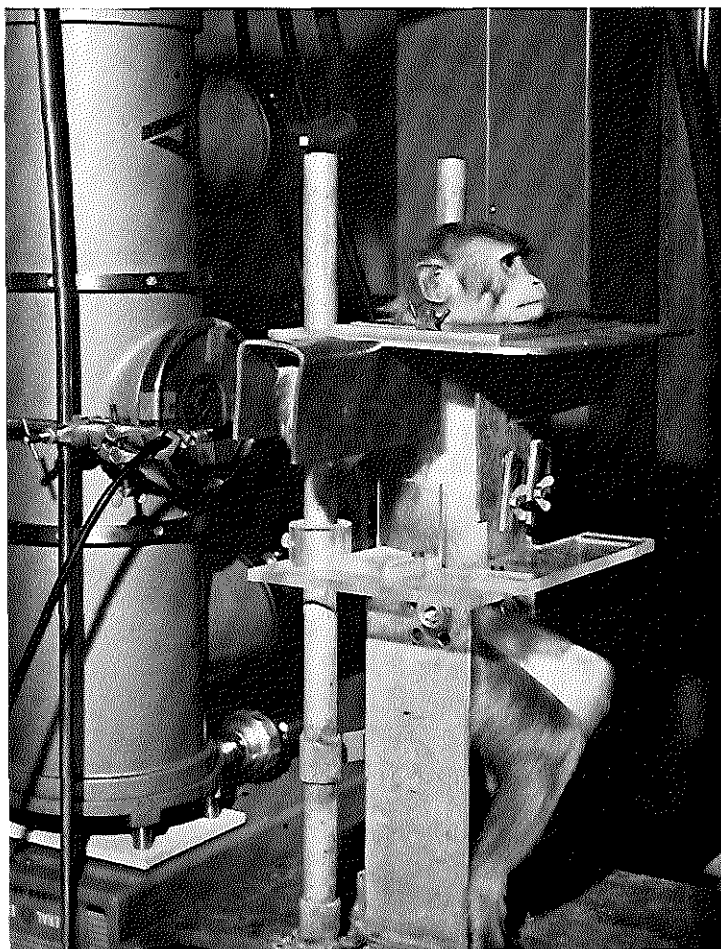


Fig. 12. Opstelling bij de bestraling van de rhesusapen.
De loden afscherming van de kop is nog niet aangebracht.

gewicht van 2500 gram. Bovendien waren wij in staat 6 andere exemplaren van dezelfde soort als controlegroep te gebruiken. Het waren eveneens 2 jaar oude dieren van ongeveer gelijk gewicht, die na een experiment met niertransplantatie zo kort na deze ingreep waren overleden, dat men mag aannemen, dat ten gevolge daarvan geen reno-vasculaire afwijkingen konden zijn opgetreden.

Dosimetrie

Besloten werd deze kleine groep proefdieren uniform te bestralen op hart en aorta tot een totale dosis van 6000 R met 5 fracties per week, ieder van 200 R. De bestraling vond plaats met een Philips-Müller, M.G. 300-apparaat. De anodespanning bedroeg 300 kV, de stroomsterkte 10 mA. Er werd gebruik gemaakt van een gecombineerd filter van 2 mm Cu en 1 mm Al, resulterend in een h.v.d. (halveringsdikte) van 2,1 mm Cu.

De apen werden tijdens de bestraling in een speciale stoel gefixeerd en aan de ventrale en dorsale zijde afgedekt met een 3 mm dikke loodplaat. Hierin bevond zich een $3,5 \times 4$ cm grote opening, die volledige exposie van het hart, de aortaboog en de thoracale aorta mogelijk maakte, waarbij vooral werd geprobeerd de longen zoveel

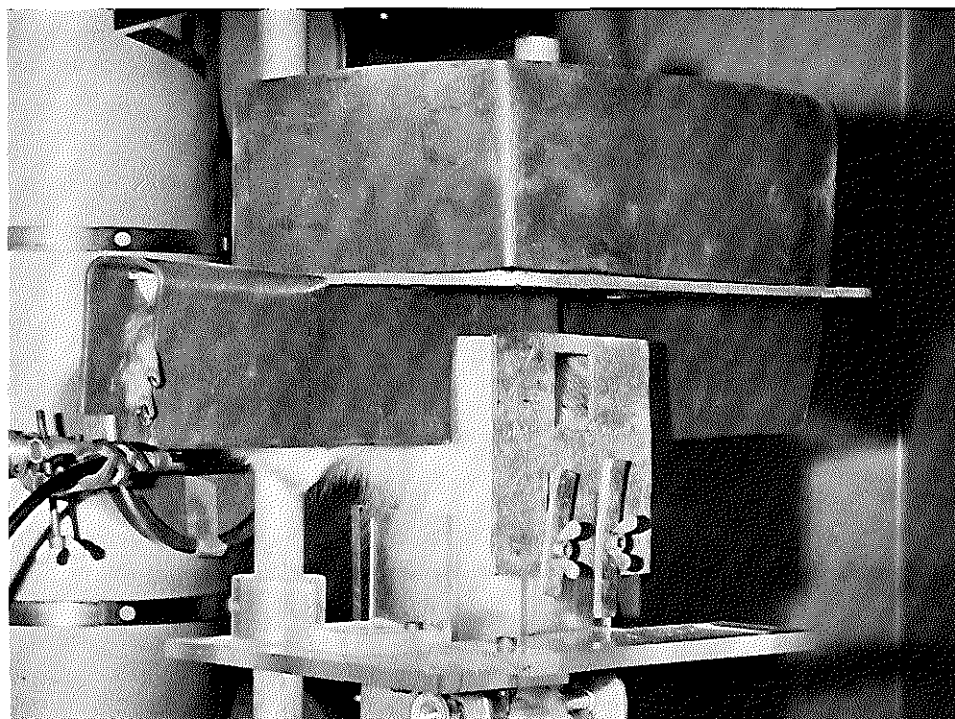


Fig. 13. Opstelling bij de bestraling van de rhesusapen na het aanbrengen van de definitieve afscherming.

mogelijk buiten het bestralingsveld te houden (fig. 12 en 13). Voor de juiste instelling werd gebruik gemaakt van merktekens op de huid, die aangebracht waren na het maken van instelfoto's bij ieder proefdier. Het bleek niet mogelijk een reproduceerbare instelling te verkrijgen door de ribbenboog of de uitwendig voelbare ictus cordis als referentiepunt te gebruiken. De voor-achterwaartse afmeting van de 6 rhesusapen bedroeg 9,5 cm. Uit enige obducties was gebleken, dat het centrum van het hart op 4 à 4,5 cm diepte van de ventrale thoraxwand lag. Om tot een goed inzicht in de dosisverdeling te komen, werden ook voor dit experiment fantoommetingen verricht in een blok masoniet, dat dezelfde afmetingen had als de thorax van de te bestralen apen. De metingen in het fantoom werden gedaan met een Baldwin „Ionex-dosimeter”, terwijl met een in de intredende bundel opgestelde Philips-ionisatiekamer de luchtdoses werd gemeten. De procentuele dieptedoses in het masonietfantoom door deze meting verkregen, zijn vastgelegd in tabel VI, waarbij vanzelfsprekend de waarden van het ventrale en dorsale veld gelijk zijn bij overeenkomstige diepten, omdat men bij deze opstelling niet te maken heeft met het terugstrooiingseffect van de metalen spantafel, die bij de konijnenproeven werd gebruikt. De exposie van het ventrale en dorsale veld was per dagfractie gelijk en zodanig, dat op een diepte tussen 4 en 4,5 cm de dosis 200 R bedroeg.

Tabel VI. Relatieve dieptedosis in het masonietfantoom gemeten voor de bestraling van de apen.

diepte in het fantoom	relatieve dieptedosis
oppervlakte	100
1,5 cm	85,8
2,3 cm	80,4
3 cm	74,3
3,5 cm	61,7
4,1 cm	57,8
4,5 cm	53,7
4,7 cm	50,5
5,4 cm	43,4
6,1 cm	38,7
6,8 cm	35,0
7,1 cm	32,4

Verloop van het experiment

Regelmatig werden van de 6 rhesusapen het gewicht en het serum-cholesterolgehalte bepaald. In fig. 14, waarin het gewichtsverloop grafisch is weergegeven, ziet men bij alle dieren, op één na, een duidelijke daling van het lichaamsgewicht vanaf het begin van de bestraling, met een herstel na beëindigen daarvan. Dit *gewichtsverlies* was dermate groot en beïnvloedde de algemene toestand dusdanig ongunstig, dat na een totale haarddosis van 4000 R besloten werd de bestraling van 3 individuen (nrs. 1165, 1255 en 1260) te stoppen en bij de 3 overige exemplaren (nrs. 1252, 1253 en 1258), waarvan de conditie redelijk was, te trachten alsnog tot de voorgenomen haarddosis

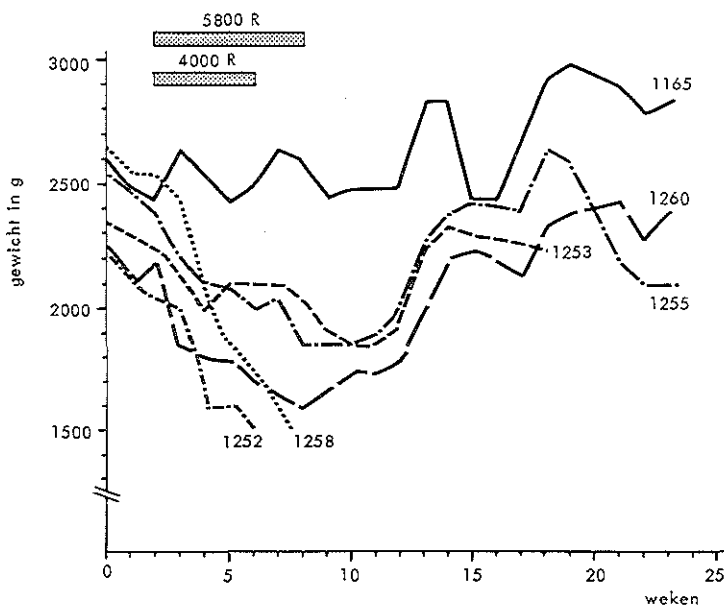


Fig. 14. Het verloop van het gewicht van de rhesusapen.

Voor de overzichtelijkheid zijn de meetpunten weggelaten. De weging vond plaats om de week. Iedere curve correspondeert met de waarden van één dier. Het aantal weken op de X-as komt overeen met de duur van het experiment. De dieren 1252, 1253 en 1258 zijn tijdens het experiment overleden (zie tekst).

van 6000 R te komen. Toen één van deze laatst genoemde 3 apen (nr. 1252) na een exposie van 4800 R stierf en de 2 andere na een totale tumordosis van 5800 R eveneens in een slechte algemene toestand verkeerden, werd de laatste bestralingsfractie niet meer gegeven. Resumerend: 3 apen kregen 4000 R, 1 aap 4800 R en 2 apen 5800 R als totale dosis van hart en aorta in gelijke fracties van 200 R, op 5 achtereenvolgende dagen per week.

Het *serum-cholesterolgehalte* daalde in het begin van de bestralingsperiode, doch deze daling, die niet zo sterk was, kan verklaard worden door de verminderde voedselopname na het begin van de bestraling (fig. 15). Aan het eind van de bestralingsperiode was er op één uitzondering na een lichte stijging, totdat waarden werden bereikt, die blijkens literatuurgegevens [34] normaal voor de aap zijn. Een verklaring voor het hoge cholesterolgehalte van aap 1258 is niet mogelijk. Waarschijnlijk is hier sprake van een individueel kenmerk. Een foutieve bepaling lijkt minder waarschijnlijk, omdat alle waarden bij dit dier relatief hoog lagen. De oorzaak kan evenmin gezocht worden in indikken van het bloed, omdat de haematocriet steeds normaal was.

De *haematocriet* werd overigens bij alle proefdieren regelmatig bepaald. De waarden varieerden weinig en vielen steeds binnen de normale grenzen. Dit geldt eveneens voor het aantal *erythrocyten* en het aantal *thrombocyten* in de periode vóór, tijdens en na de bestraling.

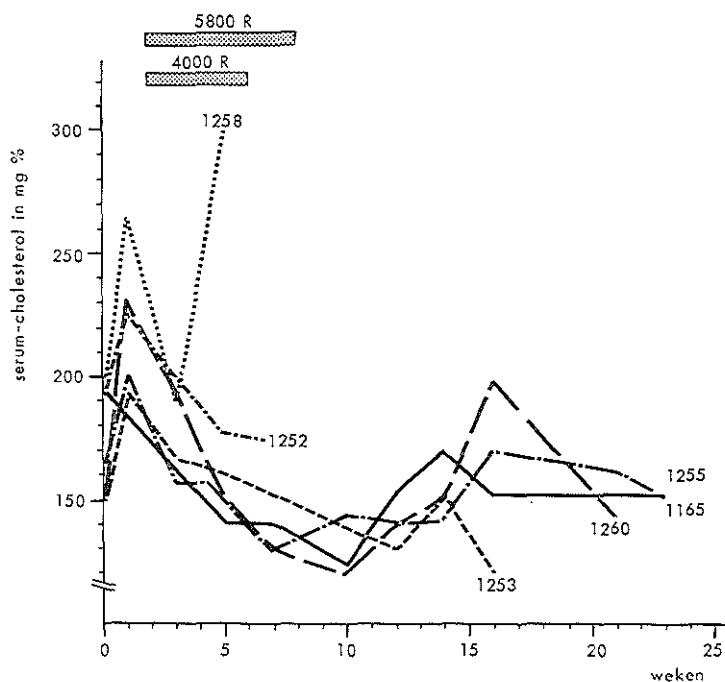


Fig. 15. Het verloop van het serum-cholesterolgehalte van de rhesusapen. De bepaling vond plaats om de 2 weken. Iedere curve correspondeert met de waarden van één dier.

Het aantal weken op de X-as komt overeen met de duur van het experiment. De dieren 1252, 1253 en 1258 zijn tijdens het experiment overleden (zie tekst).

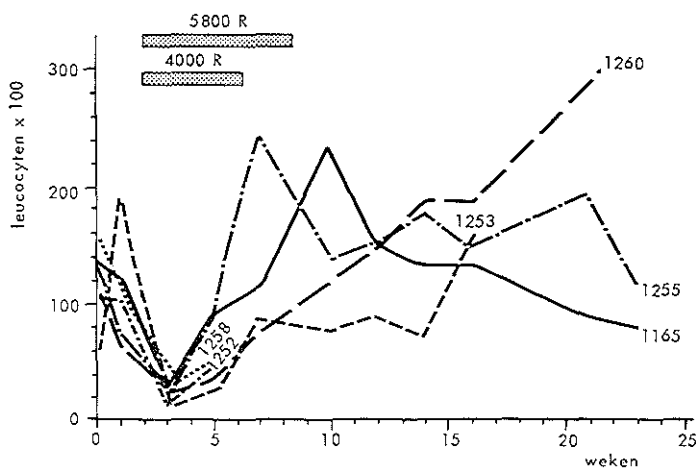


Fig. 16. Het verloop van het leucocytenaantal van de rhesusapen. De bepaling vond plaats om de 2 weken. Iedere curve correspondeert met de waarden van één dier.

Het aantal weken op de X-as komt overeen met de duur van het experiment. De dieren 1252, 1253 en 1258 zijn tijdens het experiment overleden (zie tekst).

Anders was het gesteld met het *leucocytenaantal*. Fig. 16 geeft het aantal leucocyten per mm^3 weer bij de afzonderlijke proefdieren. Opvallend is de sterke daling tijdens de eerste 2 weken van de bestraling. Bij de meeste individuen daalde het aantal tot onder $3000 \text{ per } \text{mm}^3$. Geleidelijk trad na de tweede bestralingsweek herstel op tot de beginwaarden waren bereikt. Hoe men het mechanisme van deze leucopenie en het spontane herstel hiervan moet verklaren, is niet duidelijk. Het valt buiten het bestek van dit onderzoek in te gaan op de etiologie van dit fenomeen.

De *huidreactie* was bij de rhesusapen sterk. In tegenstelling tot de konijnen, waarbij nauwelijks enige reactie optrad, ontstond na een exposie van 3000 R op de huid van het bestraalde gebied het bekende beeld van de epidermolyse. Aan de ventrale zijde was de reactie sterker dan aan de dorsale, doch ook hier kwam deze bij alle individuen voor. Ongeveer 2 weken na het beëindigen van de bestraling trad spontaan herstel van genoemde huidlesies op.

Bij aap 1260 ontstonden in de derde week van de proef rode vlekken over het gehele lichaam en in de mond waren typische Koplik's stipjes aan het slijmvlies te zien. De op grond hiervan vermoede diagnose morbilli werd serologisch bevestigd (dr. D. v. d. Waaij). Dit is het op de 21ste week van het experiment overleden proefdier, waarbij de bacteriekweek uit materiaal van pericard en pleura negatief was. Het hart had een tumordosis van 4000 R ontvangen.

Proefdier 1252 is na exposie van 4800 R in bijna 5 weken spontaan overleden. Bij obductie werd een pneumonie van de linker onderkwab gevonden, waaruit *Staphylococcus aureus haemolyticus* werd gekweekt. Op het mesenterium vond men verschillende witte stippen, die bleken te berusten op uitgezette en met chylus gevulde lymfvaatjes. Mogelijk is dit een agonaal verschijnsel, dat ontstaat door verhoogde druk in de ductus thoracicus en de ductus lymphaticus dexter via de vena subclavia. Direct na het bekend worden van de positieve kweek werd aan de overige proefdieren profylactisch penbritin gegeven in een dosering van 125 mg per dag i.m. gedurende 3 weken.

Dit kon niet verhinderen, dat aap 1258 na één week dyspnoïsch te zijn geweest, direct na het bereiken van een haarddosis van 5800 R is overleden aan een pneumonie van beide onderkwabben. De kweek van het longsecreet was positief voor *Pseudomonas aeruginosa*.

In de 18e week van de proef overleed aap 1253 aan een pericarditis en een pleuritis, waarbij *Diplococcus pneumoniae* kon worden aangetoond. Dit exemplaar had een totale haarddosis van 4000 R ontvangen.

De apen 1165 en 1255 overleefden de proef en werden in de 24ste week met pentothal afgemaakt en geobduceerd. Beide dieren hadden 4000 R haarddosis gekregen.

Vooruitlopend op de anatomische bevindingen kan men concluderen, dat de rhesusaap zeer gevoelig voor bestraling is. Opvallend waren de longcomplicaties, die bij deze proefstelling op de voorgrond stonden, hoewel getracht is de longen zoveel mogelijk buiten het bestralingsveld te houden. De huidreacties waren bij dit proefdier ook sterker dan die men bij de mens in vergelijkbare dosering kent.

HOOFDSTUK III

Macroscopisch onderzoek

Techniek

Alle proefdieren werden volledig geobduceerd, waarbij het hart en de aorta tot en met de bifurcatie in toto werden verwijderd. Om de atheromateuze afwijkingen goed zichtbaar te maken, werd een soedan IV (scharlakenrood) – kleuring gedaan. Met deze kleurstof wordt vrij cholesterol weinig, doch cholesterolester sterk rood gekleurd. Het is bekend, dat in atheromateuze plekken deze ester veel voorkomt en men deze substantie aldus goed zichtbaar kan maken. De kleuring werd gedaan volgens een methode, die door Thomasson en Vles is ontwikkeld (persoonlijke mededeling).

Het hart en de aorta werden in toto gedurende 24 uur in fysiologische zoutoplossing bij 4 °C bewaard om het aanklevende bloed los te weken. Daarna werd de gehele aorta aan de ventrale zijde in de lengterichting opengeknipt. Van het hart werden beide boezems en kamers opgelegd en het gehele preparaat werd opgespannen en in een 4% formalineoplossing gedurende 24 uur gefixeerd. Hierna werd een verzadigde oplossing van soedan IV gemaakt met een mengsel van gelijke delen alcohol 96% en aceton. Deze oplossing werd verdund met aqua dest. in verhouding:

30 volumedelen aqua dest.

70 volumedelen verzadigde soedan IV-oplossing.

Deze oplossing werd gefiltreerd en het preparaat werd gedurende 30 minuten in het filtraat gekleurd en hierna gedurende 30 minuten in alcohol 70% gedifferentieerd.

De figuren 17, 18 en 19 geven een indruk van het effect dat door deze kleuring wordt verkregen bij het al of niet aanwezig zijn van soedanofiele plaques in aorta en hartkleppen.

Fig. 17. Hart- en aortapreparaat van een normaal gevoederd en onbestraald vrouwelijk konijn. Soedan IV kleuring. Er is geen soedanofilie zichtbaar.

Fig. 18. Hart- en aortapreparaat van een met 0,5 gew.% cholesterol gevoederd, onbestraald vrouwelijk konijn. Soedan IV kleuring. Soedanofiele plaques in de thoracale aorta, het sterkst uitgesproken in de arcus aortae, de afsplitsingsplaatsen van de aa. intercostales en het overgangsgebied thoracale-abdominale aorta. In de abdominale aorta is er in mindere mate afzetting van soedanofiele substantie en geen specifieke lokalisatie. De hartkleppen vertonen eveneens soedanofilie.



Fig. 17.



Fig. 18.



Fig. 19.

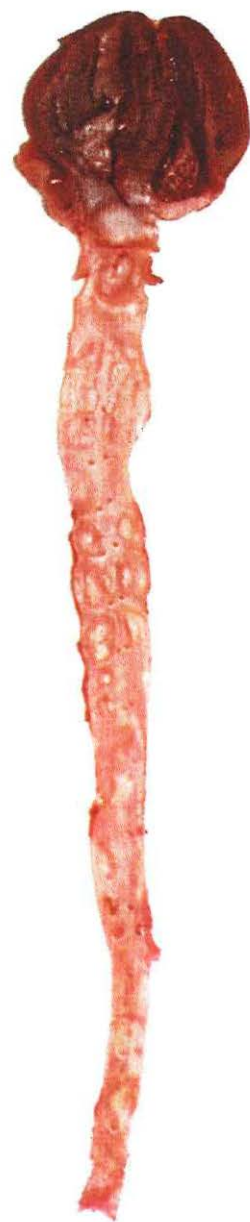


Fig. 20.

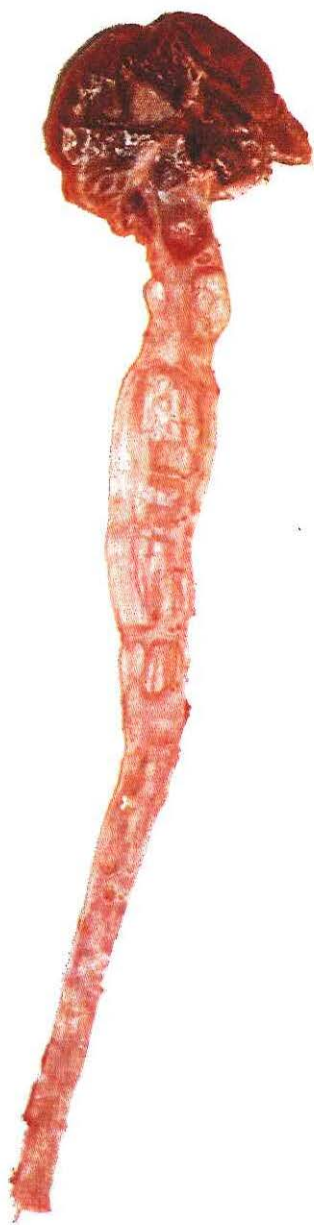


Fig. 21.

Fig. 19.

Hart- en aortapreparaat van een met 0,2 gew.% cholesterol gevoederd en onbestraald mannelijk konijn.

Soedan IV kleuring. Soedanofiele plaques in de thoracale aorta, het sterkst uitgesproken in de arcus aortae, de afsplitsingsplaatsen van de aa. intercostales en het overgangsgebied thoracale-abdominale aorta. Soedanofilie van de hartkleppen.

Fig. 20.

Hart- en aortapreparaat van een normaal gevoederd en met 6000 R bestraald mannelijk konijn.

Soedan IV kleuring. Multipele, kalkbevattende aneurysmata, die gelegen zijn in de pars thoracalis aortae. Geen soedanofilie.

Fig. 21.

Hart- en aortapreparaat van een met 0,2 gew.% cholesterol gevoederd en met 2000 R bestraald mannelijk konijn. Soedan IV kleuring. Multipele, kalkbevattende aneurysmata, uitsluitend gelegen in de aortaboog en de thoracal aorta. Geen soedanofilie.

Resultaten

a. Het konijnenexperiment I

Alle dieren van deze groep mannelijke konijnen verkeerden aan het eind van de bestralingsperiode in goede conditie. Bij obductie konden, behalve in het hart en de aorta, geen macroscopische afwijkingen worden aangetoond.

Het hart

Bij uitwendige inspectie toonden de meeste harten geen afwijkingen. In 14 gevallen van de 44 had het hart een bleke kleur en was het opvallend slap van consistentie. De verdeling van deze verschijnselen over de verschillende groepen is aangegeven in tabel VII. Het valt daarbij op, dat deze kenmerken niet worden aangetroffen bij de onbestraalde konijnen, doch uitsluitend bij de bestraalde dieren. Bij de met cholesterol gevoederde konijnen was het verschil in frequentie van deze afwijkingen tussen de bestraalde en onbestraalde dieren statistisch voldoende duidelijk van betekenis ($p = 0,03$; 2×2 tabel volgens Fisher, exact berekend, tweezijdig). Voor de normaal gevoederde dieren, die gering in aantal zijn en waar slechts bij 3 gevallen een bleek en slap hart werd gezien, was geen significant verschil tussen de bestraalde en de onbestraalde konijnen. Bij combinatie van de toetsingsuitkomsten van beide groepen, te weten de normaal en de met cholesterol gevoederde konijnen, werd wel een statistisch significant effect van de bestraling gevonden ($p = 0,03$; 2×2 tabel volgens Fisher, exact berekend, tweezijdig). Deze uitkomst suggereert sterk, dat deze afwijking door de bestraling wordt veroorzaakt, maar deze groepen zijn echter te klein om een dosis-effectrelatie met zekerheid te kunnen aantonen.

Weging van de verschillende harten was niet mogelijk, omdat de bovengenoemde macroscopische soedankleuring van het hart en de aorta in toto werd verricht. De beoordeling van de soedanofilie werd van meer belang geacht, dan het vergelijken van de gewichten van het hart, gezien de opzet van ons onderzoek. Bij de gebruikte techniek was het voorkomen van soedanofiel materiaal goed te evalueren (fig. 18 en 19). Bestond er afzetting van soedanofiel materiaal aan de kleppen, dan werd altijd een gelijkmatige verdikking van de aortakleppen en in mindere mate van de mitralis gevonden. Slechts een enkele maal werden aan de pulmonaliskleppen en aan de val-

Tabel VII.
De frequentie van het voorkomen
van een slap, gedilateerd hart
bij de konijnen in experiment I.

Tabel VIII.
De frequentie van de soedanofiele
hartklepverdikking
bij de konijnen in experiment I.

	standaard voer	0,2 gew.% cholesterol	standaard voer	0,2 gew.% cholesterol
onbestraald	0/3	0/8	0/3	0/8
2000 R	0/3	2/8	0/3	2/8
4000 R	2/3	5/8	0/3	4/8
6000 R	1/3	4/8	0/3	5/8

vulvae tricuspidales analoge afwijkingen gezien. In die gevallen, waarbij atheromateuze klepverdikking voorkwam, bestond er altijd een duidelijke atheromatose van de aorta. Tabel VIII geeft een overzicht van het aantal malen, dat een soedanofiele klepverdikking bij de verschillende groepen konijnen in experiment I werd gezien. De atheromateuze klepverdikking kwam nooit bij de normaal gevoederde dieren voor, doch uitsluitend na cholesterolvoeding. In deze cholesterolgroep bleken dieren met uitgesproken klepafwijkingen tijdens het experiment ook hoge serum-cholesterolwaarden te hebben. Van de 22 met cholesterol gevoederde mannelijke konijnen toonden 11 macroscopisch aantoonbare verdikking van de kleppen. Al deze 11 exemplaren waren bestraald. De onbestraalde, met cholesterol gevoederde konijnen hadden nooit een klepverdikking. Bij onderlinge vergelijking van de groepen normaal gevoederde en met cholesterol gevoederde dieren kwam een duidelijk verschil naar voren, wat betreft het voorkomen van atheromateuze verdikking van de hartkleppen ($p = 0,04$; 2×2 tabel volgens Fisher, exact berekend, tweezijdig). Deze uitkomst wijst op een invloed van de cholesteroltoediening op het ontstaan van deze afwijking. Tevens bleek in de met cholesterol gevoederde groep bij de bestraalde dieren het voorkomen van klepafzetting statistisch significant meer voor te komen dan bij de onbestraalde groep, waarbij deze afwijking in het geheel niet werd aangetroffen ($p = 0,03$; 2×2 tabel volgens Fisher, exact berekend, tweezijdig).

Na observatie van kleur en consistentie van het hart en na het vastleggen van de klepafwijkingen, werden de harten in plakjes van 0,5 cm gesneden om het myocard te beoordelen. Hierbij werden bij geen der proefdieren afwijkingen gevonden.

De aorta

Afzetting van soedanofiele substantie kon bij een aantal aorta's fraai worden waargenomen na soedan IV-kleuring. Deze soedanofilie beperkte zich uitsluitend tot het thoracale deel van de aorta, zulks in tegenstelling tot de menselijke atherosclerose, waarvan bekend is, dat de afwijking het meest uitgesproken is in de pars abdominalis.

De oorzaak van dit verschil in lokalisatie is niet geheel duidelijk. Haemodynamische factoren spelen hierbij waarschijnlijk een rol. Lopes de Faria [97] heeft namelijk een onderzoek gedaan, waarbij konijnen in verticale houding werden gehouden. Er ontstonden in de abdominale aorta veranderingen, die sterke gelijkenis vertoonden met de cysteuse medianecrose, welke men uit de menselijke pathologie kent. Bij het vrij in de kooi bewegende konijn zijn de haemodynamische veranderingen uiteraard geheel anders dan in de verticale positie, hetgeen het verschil in lokalisatie van de atheromateuze afwijkingen op het eerste gezicht zou kunnen verklaren. De atheromateuze afzetting werd bij de proefdieren van dit experiment voornamelijk aangetroffen rond de aftakkingen van de aa. intercostales en rond de plaatsen, waar de arteriën uit de arcus aortae ontspringen. Deze afzetting, die vaak een typische V-vorm vertoont, is duidelijk te zien in fig. 19. De plaats van de afsplitsing van de arteriën ligt in de kleinste hoek, die door de benen van de V wordt gevormd.

Tabel IX. Het voorkomen van macroscopische afwijkingen in de aorta van de konijnen in experiment I.

groepen		soedanofilie*		aneurysmatische verwijding**	cholesterolgehalte***
normaal gevoederd	onbestraald	1.	—	—	20
		2.	—	(+)	10
		3.	—	—	22
	2000 R	4.	—	+	33
		5.	—	—	19
		6.	—	—	35
	4000 R	7.	—	(+)	19
		8.	—	+	26
		9.	—	(+)	24
	6000 R	10.	—	—	18
		11.	—	++	16
		12.	—	+	18
0,2 gew.% cholesterol	onbestraald	13.	—	—	52
		14.	—	(+)	94
		15.	—	—	61
		16.	—	—	105
		17.	++	(+)	167
		18.	—	—	98
		19.	—	—	38
		20.	—	(+)	67
	2000 R	21.	—	—	13
		22.	+	++	216
		23.	—	—	29
		24.	—	—	143
		25.	—	—	67
		26.	—	—	33
		27.	+	—	44
		28.	+	+++	120
	4000 R	29.	+	—	197
		30.	+	(+)	150
		31.	+	—	125
		32.	+	—	136
		33.	+	—	77
		34.	—	++	128
		35.	+	++	27
		36.	—	+++	53
	6000 R	37.	+	++	106
		38.	+	—	54
		39.	+	(+)	127
		40.	+	++	25
		41.	—	+++	32
		42.	+	+	70
		43.	+	—	148
		44.	+	++	164

* + = soedanofilie <25% van de totale aortaoppervlakte

++ = idem 25–50%

+++ = idem 50–75%

++++ = idem >75%

** (+) = porseleinachtige plekjes

+ = <1/3 deel van de aorta met aneurysmatische verwijding

++ = idem 1/3–2/3 deel

+++ = idem >2/3 deel

*** het laatst bepaalde serum-cholesterolgehalte in mg%

In die gevallen, waarbij atheromateuze veranderingen in de aorta werden gevonden, ziet men altijd de omvang ervan afnemen in de richting van de bloedstroom, vanuit de arcus aortae naar distaal. In het overgangsgedebied van thoracale en abdominale aorta blijkt er vrijwel altijd weer een toename van de soedanofilie te bestaan, terwijl deze afwijking in het abdominale deel bij de in dit experiment gebruikte exemplaren geheel ontbreekt.

Ten einde het voorkomen van atherosclerose kwantitatief vast te leggen, is de mate van soedanofilie uitgedrukt in waarden van + tot en met + + + +, zoals ook Bragdon [24] dit bij zijn onderzoek over de atherosclerose heeft gedaan. Deze semi-kwantitatieve notering is vastgelegd in tabel IX.

Bij geen van de 12 normaal gevoederde, mannelijke konijnen werden atheromateuze plaques in de aorta gevonden, ongeacht of al of niet bestraling plaats vond. Bij de 32 met 0,2 gew.% cholesterol gevoederde dieren werd 17 maal soedanofiel materiaal in de aorta aangetroffen. Het verschil met de normaal gevoederden is statistisch zeer duidelijk van betekenis ($p < 0,01$; berekend volgens de χ^2 -benadering; Yates correctie). Vergelijkt men bij de met cholesterol gevoederde dieren de groepen onbestraalde en bestraalde exemplaren, dan is hiertussen eveneens een significant verschil ($p < 0,05$; berekend volgens de χ^2 -benadering; Yates correctie). In tabel IX is tevens aangegeven de laatste, tijdens het experiment bepaalde serum-cholesterol-waarde in mg%. Hoewel er geen strikte relatie is tussen het voorkomen van soedanofilie en een hoge cholesterolspiegel, blijkt daaruit, dat indien er soedanofilie is, dit samengaat met relatief hoge cholesterolspiegels.

Behalve de min of meer verwachte soedanofiele afzetting in de aortawand bij de met cholesterol gevoederde konijnen, werd bij alle bestraalde groepen in verschillende aortae een aneurysmatische verwijding gevonden, die vaak multipel voorkwam. Deze aortaverwijding kwam uitsluitend voor in de arcus aortae en in het thoracale gedeelte (fig. 20, 21, 22). Soms was deze afwijking gelokaliseerd op één plaats, waarbij er geen voorkeur bestond voor de arcus, het proximale of het distale deel van de thoracale aorta. De aneurysmatische verwijdingen strekten zich soms over grote delen van de aorta uit. Zij waren enigszins langgerekt van vorm en lagen vaak naast elkaar, waardoor zij in de breedte de gehele wand van de aorta in beslag konden nemen. De wand

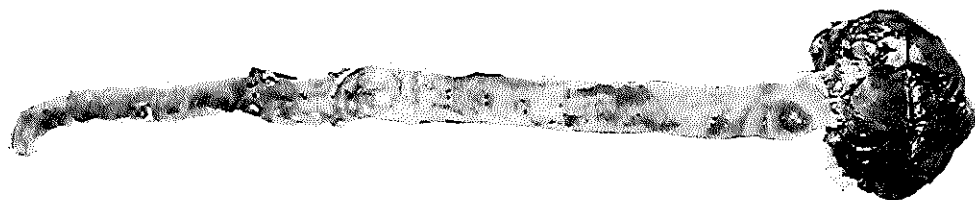


Fig. 22. Hart- en aortapreparaat van een met 0,2 gew.% cholesterol gevoederd en met 6000 R bestraald mannelijk konijn.
Soedan IV kleuring.
Kalkbevattende aneurysmatische verwijding van de aorta in het thoraco-abdominale overgangsgedebied. Geen soedanofilie.

van de aorta was op de plaats van het aneurysma bleekglanzend en bros. Na licht samendrukken verscheen er een craquelé-achtige tekening, die de aanwezigheid van kalk in de wand deed vermoeden. Op de plaats van de aneurysmata kon nooit soedanofiel materiaal worden aangetoond. De aneurysmatische verwijding werd alleen bij bestraalde dieren gezien, zowel bij normaal gevoederde als na een cholesterol dieet en er bleek geen relatie te bestaan met de grootte van de stralingsdosis. Voor het noteren van de kwantitatieve uitbreiding van de aneurysmatische verwijding, zoals in tabel IX weergegeven, zijn 3 in plaats van 4 gradaties genomen, omdat de betreffende afwijking minder goed was af te grenzen dan de soedanofiele plaques, die meestal scherp omschreven waren.

De met (+) aangeduide waarneming is die van porseleinachtige vlekjes, van een enkele tot ongeveer 5 mm diameter. Deze kwamen uitsluitend in de thoracale aorta voor, zonder dat er enig verband bestond met de cholesterolvoeding of de bestraling. Op verschillende plaatsen lagen porseleinachtige plekjes naast de aneurysmata en hadden een enigszins ovale vorm, terwijl de grootte soms overeenkwam met die van kleine aneurysma's, zonder dat er van uitbochting van de wand sprake was. Wanneer bij de statistische bewerking uitgegaan wordt van die lesies, welke duidelijk als een aneurysma kunnen worden opgevat, dus de met (+) aangegeven porseleinachtige plekjes niet worden meegeteld, dan blijkt $p = 0,035$ (2×2 tabel volgens Fisher, exact berekend, tweezijdig), hetgeen betekent, dat de bestraling een duidelijke invloed heeft op het ontstaan van een aneurysmatische aortaverwijding. Voor een mogelijke invloed van de voeding werden geen duidelijke aanknopingspunten gevonden, omdat 4 van de 12 exemplaren in de normaal gevoederde groep tegen 10 van de 32 met cholesterol gevoederde dieren aneurysmata hadden. Evenmin is er een relatie met de hoogte van de serum-cholesterolspiegel.

b. Het konijnenexperiment II

Op 4 uitzonderingen na verkeerden de konijnen van groep II aan het einde van de observatieperiode in goede toestand en konden op het voorgenomen tijdstip na decapitatie worden geseceerd. Afgezien van het hart en de aorta werden macroscopisch geen afwijkingen gevonden. De voortijdig overleden exemplaren zijn de volgende:

1. Een normaal gevoederd en bestraald konijn (nr. 9) overleed op het einde van de observatieperiode aan een peri- en epicarditis. Er bevond zich helder vocht in pleura- en peritoneaalholte.
2. Na een haarddosis van 1650 R overleed een met cholesterol gevoederd konijn (nr. 33a) door een val van de bestralingstafel. Macroscopisch werden geen afwijkingen gevonden. Bij bewerking is dit overleden konijn verder buiten beschouwing gelaten en vervangen door een met cholesterol gevoederd reservedier (nr. 33b).
3. Een met cholesterol gevoederd en bestraald konijn (nr. 35) werd een dag voor de voorgenomen obductie dood aangetroffen. Behalve helder vocht in pleura- en

peritoneaalholte werden geen afwijkingen gevonden, afgezien van enkele bleke plekken in de linker ventrikel, waarop later zal worden ingegaan.

4. Geen macroscopische afwijkingen werden gevonden bij een met cholesterol gevoerd en bestraald konijn (nr. 36), dat gedood werd, omdat het diarrhee had en sterk vermagerde en wij zo mogelijk ons onderzoek niet wilden laten beïnvloeden door beelden ontstaan door autolyse post mortem, indien wij niet in staat zouden zijn direct obductie te verrichten.

Twee onbestraalde, met cholesterol gevoederde konijnen (nrs. 19 en 20) hadden afwijkingen aan de lever. Dit orgaan was in beide gevallen normaal van grootte, doch het had een korrelig aspect en een kleur, die men kent als nootmuskaatlever.

Het hart

Bij 8 van de 40 in dit experiment gebruikte konijnen werd een slap gedilateerd hart gevonden. De verdeling van deze bevindingen over de verschillende groepen is weergegeven in tabel X, waaruit blijkt, dat evenals bij experiment I slechts bij bestraalde dieren deze afwijking voorkomt. Statistisch is dit verschil voldoende duidelijk aantoonbaar ($p < 0,05$; χ^2 -verdeling met Yates-correctie; 2×2 tabel). Een verband met de cholesterolvoeding kon bij deze proefopstelling niet worden gevonden.

Soedanofilie werd aan de hartkleppen in 20 van de 40 gevallen gevonden en uitsluitend bij de met cholesteroldeet gevoederde konijnen. Tabel XI laat de frequentie van deze soedanofiele klepverdikking bij de diverse groepen zien. Het cholesteroldeet is statistisch duidelijk van betekenis, zowel bij de onbestraalde als bij de bestraalde konijnen (in beide gevallen $p < 0,01$; toets van Fisher, 2×2 tabel, exact berekend, tweezijdig). In de gevallen, waarbij klepverdikking voorkwam, was ook deze het meest uitgesproken aan de aortakleppen en de valvulae mitrales, terwijl in mindere mate de tricuspidalkleppen en die van de a. pulmonalis werden aangedaan. Bestond er een klepverdikking, dan was ook bij dit experiment altijd een duidelijke afzetting van soedanofiel materiaal in de aorta.

Na de evaluatie van kleur, consistentie en klepverdikking werden ook deze harten in plakjes van 0,5 cm gesneden om het myocard te beoordelen. Bij één bestraald en met cholesteroldeet behandeld konijn (nr. 35) werden in het myocard van de linker ventrikel enkele bleke plekken aangetroffen, die deden denken aan infarcten. Zoals

Tabel X.
De frequentie van het voorkomen
van een slap, gedilateerd hart
bij de konijnen in experiment II.

Tabel XI.
De frequentie van de soedanofiele
klepverdikking
bij de konijnen in experiment II.

	standaard voer	0,5 gew.% cholesterol	standaard voer	0,5 gew.% cholesterol
onbestraald	0/8	0/8	0/8	6/8
5000 R	2/8	6/16	0/8	14/16

Tabel XII. Het voorkomen van macroscopische afwijkingen in de aorta van de konijnen in experiment II.

groepen		soedanoflie*		aneurysmatische verwijding**	cholesterolgehalte***
normaal gevoederd	onbestraald	1.	-	-	49
		2.	-	-	46
		3.	-	-	77
		4.	-	-	19
		5.	-	-	38
		6.	-	-	55
		7.	-	-	58
		8.	-	-	56
	5000 R	9.	-	-	175
		10.	-	(+)	74
		11.	-	(+)	47
		12.	-	-	56
		13.	-	-	90
		14.	-	-	77
		15.	-	-	64
		16.	-	-	58
0,5 gew.% cholesterol	onbestraald	17.	+++	-	715
		18.	++++	-	640
		19.	++++	(+)	577
		20.	++++	-	890
		21.	+	-	399
		22.	++	-	565
		23.	+	-	850
		24.	+++	-	1190
	5000 R	25.	++	-	324
		26.	+++	(+)	425
		27.	++++	(+)	1375
		28.	+++	(+)	820
		29.	++++	(+)	430
		30.	++	(+)	120
		31.	+++	-	890
		32.	++	-	520
		33a.	+	-	920
		33b.	+	-	575
		34.	+	(+)	660
		35.	++	-	920
		36.	++	-	550
		37.	+	-	88
		38.	+	-	725
		39.	+++	(+)	2100
		40.	+++	(+)	808

* + = soedanoflie <25% van de totale aortaoppervlakte
 ++ = idem 25-50%
 +++ = idem 50-75%
 ++++ = idem >75%

** (+) = porseleinachtige plekjes.

*** Het laatst bepaalde serum-cholesterolgehalte in mg%.

eerder gemeld, bestond bij dit exemplaar ophoping van helder vocht in pleura- en peritoneaalholte, hetgeen zou kunnen wijzen op een insufficiëntie van het hart. Overigens werden bij de inspectie van de hartcoupes bij geen der dieren afwijkingen aangetroffen.

De aorta

Bij geen van de vrouwelijke konijnen in experiment II, die normaal gevoederd waren, werd soedanofiele substantie in de aorta gevonden na macroscopische kleuring met soedan IV volgens de in het begin van dit hoofdstuk aangegeven techniek. Alle aortae daarentegen van de met 0,5 gew.% cholesterol gevoederde dieren, vertoonden in geringe tot zeer sterke mate soedanofiele plaques (fig. 18). Tabel XII geeft de verdeling van deze soedanofilie aan over de verschillende groepen. Kwantitatief is de notering evenals bij proef I vastgelegd met +, ++, +++ en +++, respectievelijk als de afwijking minder dan 25%, 25–50%, 50–75% en meer dan 75% van de totale aortaoppervlakte bestreek.

Het verschil tussen normaal gevoederde en met cholesterol gevoederde dieren is zowel bij de onbestraalde als bij de bestraalde groepen statistisch zeer duidelijk van betekenis (voor beide: $p < 0,01$; toets van Fisher, 2×2 tabel, exact berekend, tweezijdig). In verband met de hoge frequentie van deze afwijking bij de met cholesterol gevoederde dieren, kon een mogelijke verdere toename door bestraling niet worden geregistreerd.

De soedanofilie bleek ook bij dit experiment het meest uitgesproken te zijn in de aorta ascendens. In de arcus aortae waren de aftakkingen van de a. carotis communis, de a. subclavia sinistra en a. anonyma door dikke wallen omgeven. Fig. 18 is representatief voor wat gemiddeld werd aangetroffen. In het thoracale gedeelte van de aorta ziet men vaak en slechts op een enkele plaats een normale intima, terwijl de overige aortawand met een dikke soedanofiele massa is bedekt. In het distale deel van de thoracale aorta is de afwijking minder uitgesproken en men ziet op dit niveau de reeds beschreven typische V-vormige afzetting rond de aftakkingen van de aa. intercostales. Evenals in experiment I bestond er een toename van de roodgekleurde substantie op de overgang van thoracale en abdominale aorta, doch in experiment II werd ook soedanofiele plaquevorming in de pars abdominalis aortae gevonden, een toestand, die bij de mannelijke konijnen van het eerste experiment nooit werd aangetroffen. De lipidenafzetting nam naar distaal af en ontbrak bij de bifurcatie geheel.

Een aneurysmatische verwijding van de aorta kwam bij geen der konijnen van deze groep voor. Wel trof men bij verschillende dieren de reeds beschreven porseleinachtige plekken aan en dan uitsluitend in het thoracale deel van de aorta. Het voorkomen van dit kenmerk is voor de verschillende groepen aangegeven in tabel XII. Men ziet dat deze bevinding op één uitzondering na – het betreft een met cholesterol gevoederd, onbestraald dier – slechts bij bestraalde konijnen voorkomt. Bij statistische toetsing van deze gegevens uit tabel XII kon geen verschil worden aangetoond tussen bestraalde en onbestraalde, normaal gevoederde dieren ($p = 0,18$; toets van

Fisher, 2×2 tabel, exact berekend, tweezijdig). Voor de met cholesterol gevoederde groepen werd evenmin een significant effect van de bestraling op het voorkomen van porseleinachtige plekje gevonden ($p = 0,18$; toets van Fisher, 2×2 tabel, exact berekend, tweezijdig). Doch indien de normaal gevoederde en met cholesterol gevoederde groepen worden samengevoegd, dan blijkt dat er wel een statistische significantie bestaat ten aanzien van dit kenmerk bij de bestraalde konijnen ($p < 0,05$; χ^2 -verdeling met Yates-correctie; eenzijdig). Enige relatie met de hoogte van de cholesterolspiegel bestond er niet.

c. Proeven met de rhesusapen

Slechts 2 apen overleefden het experiment tot het eind van de voorgenomen observatieperiode. De overige 4 dieren waren vóór die tijd overleden. In hoofdstuk II is bij de beschrijving van het verloop van de proef met de rhesusapen reeds hierop ingegaan.

1. Eén van de dieren, die de gehele observatieperiode overleefde, was een mannelijke rhesusaap (nr. 1165), waarvan het hart en de aorta een totale dosis van 4000 R in 4 weken hadden ontvangen. Uitwendig waren er geen afwijkingen bij dit dier, dat een goede algemene toestand bezat. Bij obductie werden in de longen een geschrompelde linker bovenkwab en rechteronderkwab gevonden. De bacteriekweek was negatief. Overigens konden er geen afwijkingen worden geconstateerd en hadden met name het hart en de aorta een normaal aspect.
2. Evenmin konden aan de tractus circulatorius afwijkingen worden gevonden bij een vrouwelijk dier (nr. 1255), die eveneens de observatieperiode overleefde, doch op het eind daarvan in een slechte algemene toestand verkeerde. Dit exemplaar, dat eveneens 4000 R in 4 weken had ontvangen, toonde ook longafwijkingen, bestaande uit schrompeling van rechter boven- en middenkwab en linker onderkwab. Ook van deze longen was de bacteriekweek negatief.
3. Een mannelijke aap (nr. 1252) overleed cachectisch tijdens de bestralingsperiode, nadat hij een totale dosis van 4800 R in bijna 5 weken had ontvangen. Er bestond epidermolyse van het ventrale bestralingsveld. Doodsoorzaak was een bronchopneumonie van de linkeronderkwab (bacteriekweek: *Staphylococcus aureus* haemolyticus). Verspreid over het gehele viscerale peritoneum waren speldenknop grote witte vlekken, die niet af te strijken waren en berustten op chylus in uitgezette lymfvaatjes. Op de etiologie is in hoofdstuk II reeds ingegaan. Overigens werden er geen afwijkingen gevonden. Met name waren het hart en de aorta normaal.
4. Direct na applicatie van 5800 R in bijna 6 weken overleed cachectisch een vrouwelijk exemplaar (nr. 1258), dat een epidermolyse van het ventrale bestralingsveld had. Als doodsoorzaak werd een pneumonie van beide onderkwabben gevonden (bacteriekweek: *Pseudomonas aeruginosa*). Het hart en de aorta hadden een normaal aspect.

5. Eveneens zonder afwijkingen waren het hart en de aorta van een vrouwelijke rhesusaap (nr. 1253), die 11 weken na het einde van de bestraling overleed. Het hart en de aorta hadden een totale dosis van 5800 R in bijna 6 weken ontvangen. Beiderzijds was er lichtgeel gelatineus vocht in de pleuraholte en de longen toonden multipale kleine infiltraten (bacteriekweek: *Diplococcus pneumoniae*).

6. Enkele dagen vóór het beëindigen van de voorgenomen observatieperiode overleed een andere vrouwelijke aap (nr. 1260), die op het hart en de aorta een totale dosis van 4000 R in 4 weken had ontvangen. Deze organen toonden echter geen afwijkingen, doch in het pericard waren er diffuus puntvormige bloedinkjes en het hartezakje bevatte een licht haemorrhagisch vocht. Beiderzijds in de pleuraholte was er veel helder vocht. De longen waren zonder afwijkingen (bacteriekweek: negatief).

d. Conclusies

Vat men de macroscopische bevindingen van de konijnenexperimenten I en II en van de proeven met de rhesusapen samen, dan blijkt er een groot verschil te bestaan tussen de aard van de afwijkingen die bij de konijnen uit beide groepen werden gevonden en die, welke bij de apen werden gezien. Tevens waren de macroscopische bevindingen bij de konijnen uit groep I niet identiek aan die bij proefopstelling II. In tabel XIII is het voorkomen van de verschillende lesies bij de diverse groepen schematisch weergegeven.

Tabel XIII. Schema van de macroscopische afwijkingen.

	Konijnenexperiment I				Konijnenexperiment II				Rhesus- apen normaal voer bestr.
	normaal onbestr.	voer bestr.	cholesterolvoer onbestr.	voer bestr.	normaal onbestr.	voer bestr.	cholesterolvoer onbestr.	voer bestr.	
Hart									
slap, gedilateerd	-	+	-	++	-	+	-	++	-
peri-epicarditis	-	-	-	-	-	+	-	-	-
myocardafwijking	-	-	-	-	-	-	-	+	-
soedanofiele klepverdikking	-	-	-	++	-	-	+++	+++	-
pericardbloeding	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Aorta									
porseleinachtige plekjes	+	+	++	+	-	+	+	++	-
aneurysmatische verwijding	-	++	-	++	-	-	-	-	-
soedanofilie	-	-	+	+++	-	-	+++	+++	-
Leverafwijkingen	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Longafwijkingen	-	-	-	-	-	-	-	-	+++

- = geen afwijking aantoonbaar;

+

++ = de afwijking komt voor bij meer dan $\frac{1}{3}$ en minder dan $\frac{2}{3}$ van de gevallen;

+++ = de afwijking komt voor bij $\frac{2}{3}$ van de gevallen of meer.

Na gefractioneerde röntgenbestraling van het hart en de aorta van de rhesusapen werden macroscopisch aan deze organen geen afwijkingen aangetroffen. De beschreven puntvormige bloedingen in het pericard bij één exemplaar kunnen worden opgevat als een agonaal verschijnsel. Op de voorgrond stonden pneumonieën, die bij geen van de konijnen voorkwamen. Opvallend was ook de slechte algemene toestand van enkele rhesusapen. Enig verschil tussen de geslachten werd bij deze kleine serie apen niet gezien.

Wat betreft de macroscopische afwijkingen van de konijnen zijn er in de groepen I en II behalve lesies van gelijkvormige aard ook duidelijke verschillen. Een slap en gedilateerd hart werd in beide groepen uitsluitend aangetroffen bij bestraalde dieren, ongeacht de grootte van de stralingsdosis en ongeacht de aard van het voer. De bevinding van een peri- en epicarditis bij één konijn van experiment I en die van bleke haarden in het myocard bij een ander dier van dezelfde groep, staan zo op zichzelf, dat deze voor een vergelijkend onderzoek van geen belang lijken te zijn. Soedanofiele klepverdikking kwam uitsluitend voor bij met cholesterol gevoederde dieren, doch in groep I slechts bij bestraalde exemplaren. Bij het konijnenexperiment II werden de verdikte hartkleppen echter zowel bij bestraalde als onbestraalde dieren aangetroffen. Dit betekent een duidelijke bevestiging van de bij proefopstelling I gevonden invloed van cholesterolvoeding op de atheromateuze klepverdikking. Het in de eerste serie geconstateerde verschil tussen bestraalde en onbestraalde dieren uit de met cholesterol gevoederde groep werd hier niet gezien. Waarschijnlijk waren de afwijkingen al van dien aard, dat zij door de bestraling niet meer konden verergeren. Porseleinachtige vlekjes in de aorta zag men bij alle groepen konijnen van de experimenten I en II (op één uitzondering na) alleen na bestraling. Deze lesies imponeerden als voorstadia van aneurysmata. Hiervoor pleit onder meer, dat zowel de porseleinachtige vlekken als de aneurysmatische verwijdingen zich veelvuldig naast elkaar bevonden, terwijl in experiment II deze lesies na bestraling werden aangetroffen, ofschoon zij bij deze tweede proefopstelling niet in combinatie voorkwamen met de aneurysmata, die bij experiment I statistisch duidelijk een stralingseffect bleken te zijn. Een en ander suggereert, dat er bij de konijnen van het eerste experiment een preëxistent vaatlijden was, waardoor het na bestraling eerder tot aneurysmavorming kwam dan bij groep II, waarbij op het tijdstip van de obductie de porseleinachtige plekken in de aortawand de sterkste afwijkingen waren bij het macroscopisch onderzoek. Afzetting van soedanofiel materiaal in de wand van de aorta werd uitsluitend aangetroffen na cholesterolrijk voedsel. Deze afwijking kwam het meest voor bij de konijnen van experiment II. In alle gevallen was soedanofilie het sterkst uitgesproken in de arcus aortae en in de thoracale aorta en nam abdominaalwaarts af, nadat ter hoogte van het diafragma er steeds iets meer soedanofiel materiaal werd gezien. De afzetting rond de aftakkingen van de arteriën had het typische V-vormige aspect.

Andere afwijkingen dan aan de tractus circulatorius werden niet gevonden, behalve bij 2 onbestraalde met cholesterol gevoederde konijnen uit experiment II, waarbij de lever een korrelig aspect had.

HOOFDSTUK IV

Microscopisch onderzoek

Techniek

Bij alle proefdieren werden van het hart na fixatie in de 4% formalineoplossing coupes gemaakt uit overeenkomstige plaatsen en gekleurd met haematoxyline-eosine (HE). Tevens werden als routine de azankleuring volgens Heidenhain en de elastinekleuring volgens Van Gieson gedaan en zonodig een PAS-kleuring (perjodid acid Schiff) en een kleuring volgens Feyrter voor het aantonen van respectievelijk polysacchariden en metachromasie. Om de dwarsstreping van de hartspier beter te kunnen beoordelen, werd bij het onderzoek van de rhesusapen nog een aanvullende kleuring gedaan met fosforwolframzuur-haematoxyline volgens Mallory (PTAH). Van de aortae werden coupes gemaakt uit overeenkomstige plaatsen in de arcus aortae, de pars thoracalis, het thoraco-abdominale overgangsgebied en de pars abdominalis. Behalve met haematoxyline-eosine werd bij alle specimen een elastinekleuring volgens Van Gieson en een azankleuring volgens Heidenhain uitgevoerd. Vriescoupes werden gekleurd met Soedan III na eerst ingesloten te zijn in geconcentreerde gelatineoplossing om het snijden eenvoudiger te maken. Zonodig werden ook van de aortae een PAS-kleuring en een kleuring volgens Feyrter gedaan.

Resultaten

a. Het konijnenexperiment I

Het hart

De afwijkingen die aan het hart van de konijnen bij deze proef werden aangetroffen zijn: a. myocardegeneratie, b. myocardfibrose, c. vaatafwijkingen.

ad a. De myocardveranderingen bestaan uit een onregelmatige kleurbaarheid der spiercellen, waarbij gedeelten van de spiervezels donkerder en enigszins basofiel gekleurd zijn en hier en daar een hyaline aspect vertonen. De dwarsstreping is op verschillende plaatsen vervaagd of verdwenen en men ziet het door De Boer beschreven beeld van myocytolyse, namelijk het uiteenvallen en verdwijnen van het sarcoplasma uit de spiervezel (fig. 23 en 24). Soms zijn in deze gebieden de celkernen zo niet geheel verdwenen, dan toch slecht kleurbaar. Er komen voorts polymorfie en pycnose van de kernen voor, zowel op plaatsen waar de bovengenoemde myocardafwijkingen sterk uitgesproken zijn, als op plaatsen waar deze slechts in lichte mate zijn te zien.

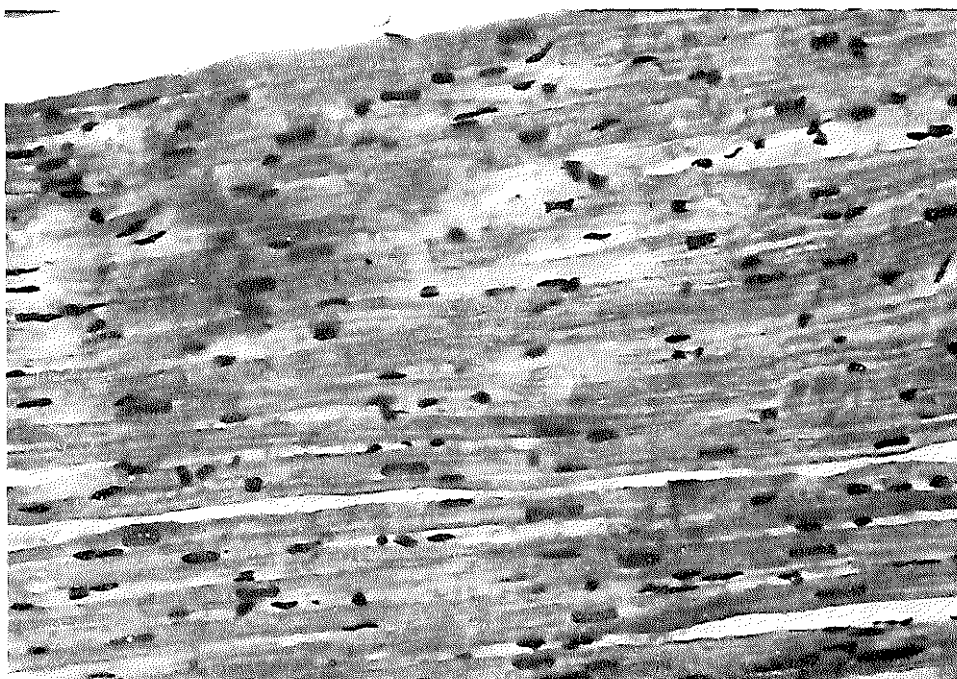


Fig. 23. Normaal beeld van het myocard van het konijn.
HE. kleuring; $\times 240$.

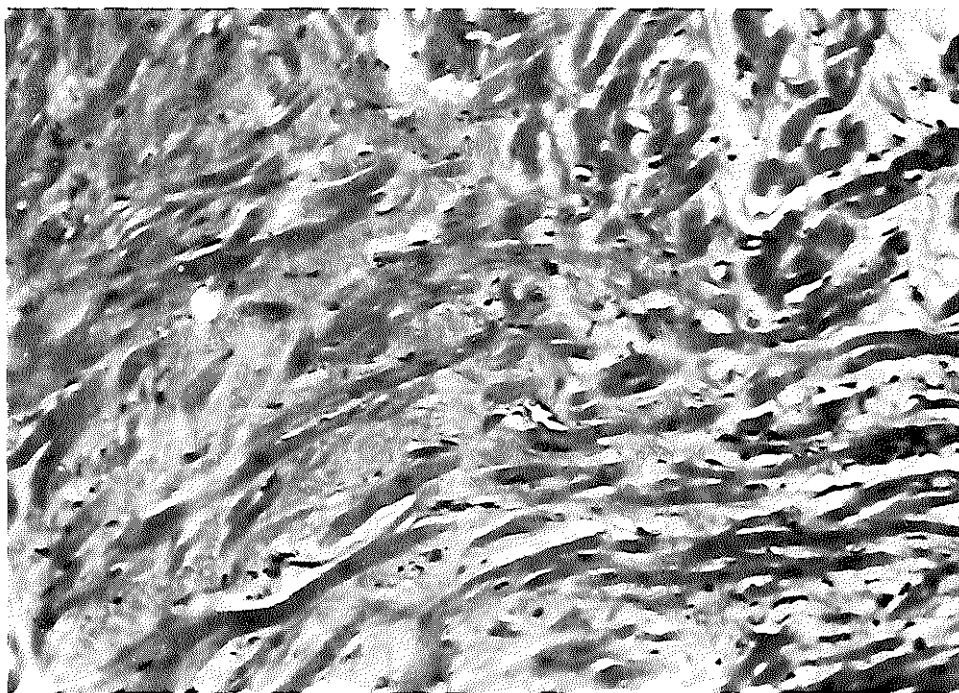


Fig. 24. Myocytolyse en fibrose van de hartspier.
Mannelijk konijn; normaal voer; 4000 R.
HE. kleuring; $\times 120$.

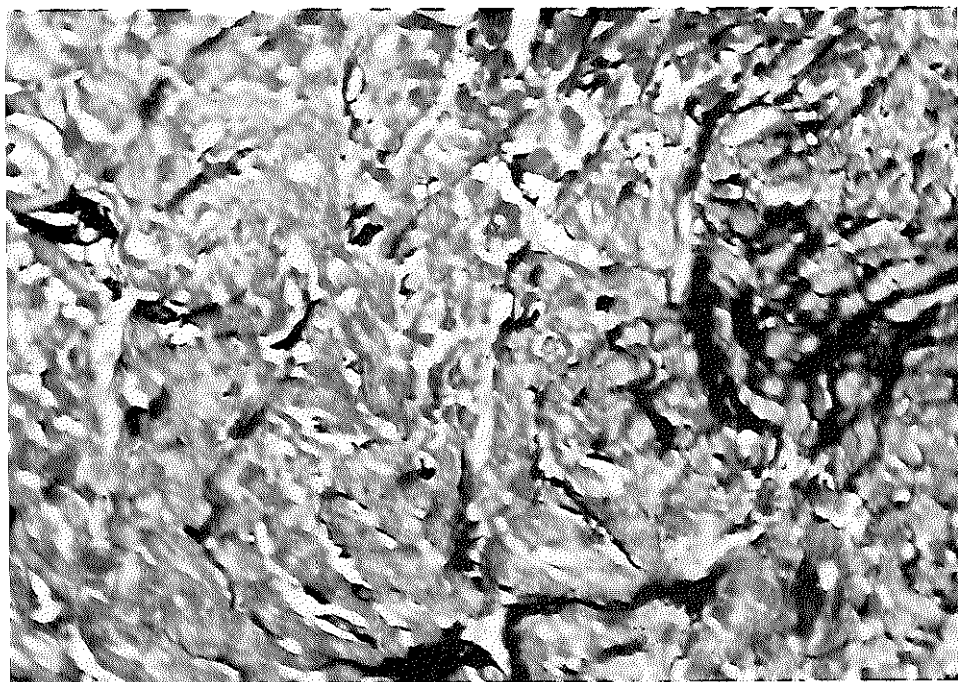


Fig. 25. Diffuse en haardvormige toename van bindweefsel in de hartspier.
Mannelijk konijn; normaal voer; 4000 R.
Azankleuring volgens Heidenhain; $\times 120$.

ad b. Fibrose wordt aangetroffen op plaatsen waar de beschreven degeneratieve afwijkingen voorkomen en daar, waar geen of slechts gering spierverval is. Meestal is het bindweefsel diffuus verspreid tussen de normale en veranderde spiercellen, soms bestaat er een haardvormige fibrose (fig. 25).

ad c. Vaatafwijkingen presenteren zich als een vernauwing van het lumen door hyalineverdikking en een ophoping van lipofagen in de intima. Het is gezien het kleine kaliber van de arterietakken vaak niet mogelijk vast te stellen of men in een bepaald geval te maken heeft met hyalinose, lipofagenophoping of een combinatie van beiden. De media is als zcdanig steeds te herkennen en toont geen afwijkingen. Trombosevorming werd nergens gezien, met name niet in die bloedvaten, waarvan het lumen door de intimaverdikking sterk was vernauwd.

In alle groepen vindt men bij enkele dieren lymfocyteninfiltraten, die verspreid tussen de spiercellen liggen. Er kon geen verband worden aangetoond tussen deze bevindingen en de bestraling of de cholesterolvoeding, reden, waarom dit lymfocytair infiltraat verder niet in de beschouwing is betrokken. Het valt buiten het kader

Tabel XIV. Microscopische afwijkingen van het hart bij het konijnenexperiment I.

groepen		konijn	myocard-degeneratie	myocard-fibrose	afwijkende a.coronaria
normaal voer	1. onbestraald	1	-	-	-
		2	-	-	-
		3	-	-	-
	2. 2000 R	4	+	-	-
		5	-	-	-
		6	+	-	+
	3. 4000 R	7	+	++	-
		8	-	-	-
		9	-	-	-
	4. 6000 R	10	+	-	-
		11	+++	++	+
		12	+	++	+
0,2 gew.% cholesterol	5. onbestraald	13	-	-	+
		14	-	-	+
		15	-	-	+
		16	-	-	+
		17	-	-	-
		18	-	-	-
		19	-	-	++
		20	-	-	++
	6. 2000 R	21	+	+	+
		22	-	-	-
		23	-	+	++
		24	++	+	+
		25	+	+	++
		26	-	-	+
		27	-	-	-
		28	+	-	-
	7. 4000 R	29	+	+	+++
		30	++	+++	+
		31	+	++	++
		32	-	-	+
		33	-	-	-
		34	-	-	+
		35	+	+	+
		36	-	-	+
	8. 6000 R	37	++	+++	+++
		38	+++	+++	++
		39	+++	+++	++
		40	++	+	+
		41	++	+	+
		42	++	+	+
		43	+++	+++	++
		44	++	++	+

classificatie van de myocarddegeneratie en de fibrose met +, ++ en +++, afhankelijk van de geschatte uitgebreidheid.

classificatie van de coronaria-afwijkingen:

- = ontbreken van afwijkingen

+ = intima tot 1 x mediadikte

++ = intima van 1 tot 2 x mediadikte

+++ = intima meer dan 2 x mediadikte (zie tekst).

van dit onderzoek in te gaan op de mogelijkheid dat een leptospirose, die vaak bij konijnen voorkomt, de oorzaak van deze lymfocytenophoping kan zijn.

Bij verschillende konijnen uit alle bestraalde groepen werd enige verdikking van het epi-, peri- en endocard gevonden, die bleek te berusten op toename van bindweefsel en lymfocytair infiltraat. Daar niet in alle coupes het pericard werd aangetroffen, is er van afgezien deze bevinding in de groepen onderling te vergelijken. Dit geldt ook ten aanzien van de microscopische veranderingen van de hartkleppen. In die gevallen, waarbij de hartkleppen in de coupes goed waren te beoordelen, werd slechts bij de met cholesterol gevoederde dieren een klepverdikking aangetroffen, die bleek te bestaan uit ophoping van lipofagen en bindweefsel met daartussen soms enig lymfocytair infiltraat. De beelden van de bestraalde dieren waren, wat de klepverdikking betreft, gelijk aan die van de onbestraalde exemplaren uit de met cholesterol gevoederde groep.

De myocarddegeneratie en -fibrose en de vaatafwijkingen zijn voor de verschillende groepen gerubriceerd in tabel XIV. Daar het noch ten aanzien van de degeneratieve veranderingen en noch wat betreft de fibrose mogelijk bleek deze in maat of getal uit te drukken, is de ernst van de afwijkingen geschat en aangegeven met +, ++ en +++, waarbij is uitgegaan van die preparaten, waarin de afwijkingen het meest uitgesproken waren te zien.

De afwijkingen aan de takken van de aa. coronariae zijn de later te noemen hyalinose en lipofagenophoping, die vaak niet scherp zijn te differentiëren, zodat deze onder één hoofd zijn gerubriceerd. Een verdikking van de intima geheel of plaatselijk tot 1 maal de mediabreedte is met + aangeduid. Bij ++ bedraagt de intimaverdikking 1 tot 2 maal die van de media en bij +++, 2 maal of meer.

Gaat men de verdeling van de in tabel XIV opgegeven afwijkingen bij de verschillende groepen na, dan kan hierdoor het effect van de bestraling en van de extra cholesteroltoediening worden geëvalueerd.

Degeneratieve veranderingen aan het myocard werden nooit aangetroffen bij de onbestraalde groepen, ongeacht de aard van het voer. In alle bestraalde groepen komen exemplaren voor met min of meer ernstige myocardbeschadiging. De groepen 2, 3 en 4 zijn te klein om op grond van de daarbij aangetroffen afwijkingen tot een dosisafhankelijkheid te besluiten, hoewel in de met 6000 R bestraalde groep 3 alle dieren myocarddegeneratie toonden. Bij de met cholesterol gevoederde en bestraalde groepen zijn de lesies echter in de met de hoogste dosis bestraalde groep 8 zo frequent en uitgebreid, dat men op grond hiervan wel een zekere dosis-effectrelatie moet aannemen.

Parallel met de verdeling van de myocarddegeneratie over de verschillende groepen loopt die van de fibrose. Deze afwijking ontbreekt eveneens in de onbestraalde groepen 1 en 5 en is het meest duidelijk in de bestraalde en met cholesterol gevoederde groep 8. Om de factoren die van invloed zijn op het ontstaan van de fibrose naar waarde te schatten zijn de groepen 2, 3 en 4 te klein. Daar de fibrose met de dosis blijkt toe te nemen, pleit dit sterk voor een dosis-effectrelatie. De causale rol van de bestraling wordt nog onderstreept door het ontbreken van bindweefselvorming in de cholesterol

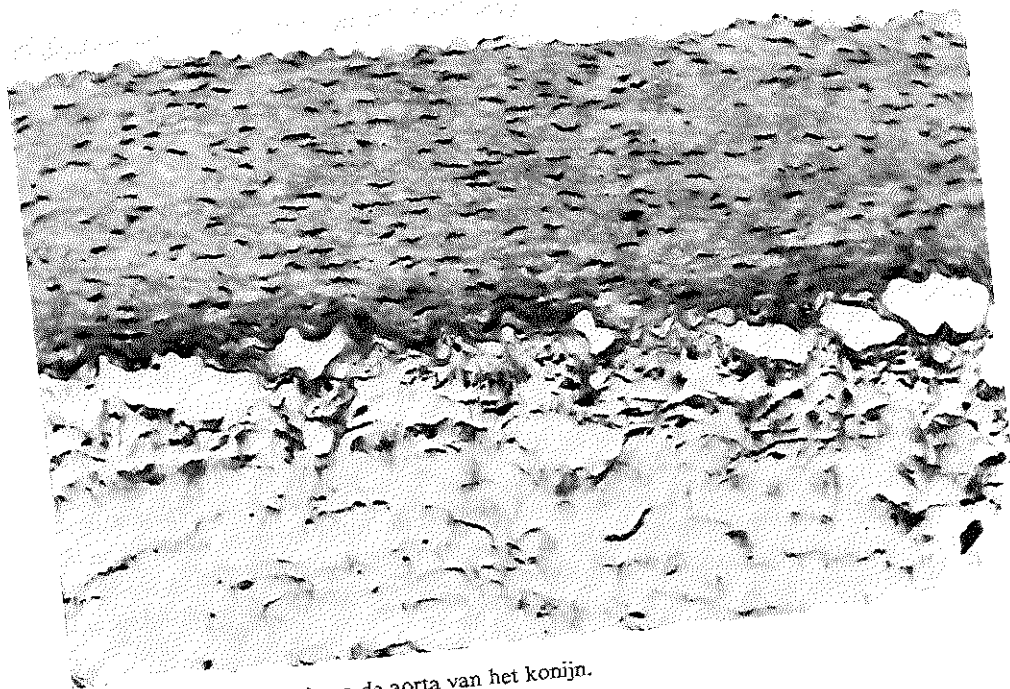


Fig. 26. Normaal beeld van de aorta van het konijn.
HE. kleuring; $\times 120$.

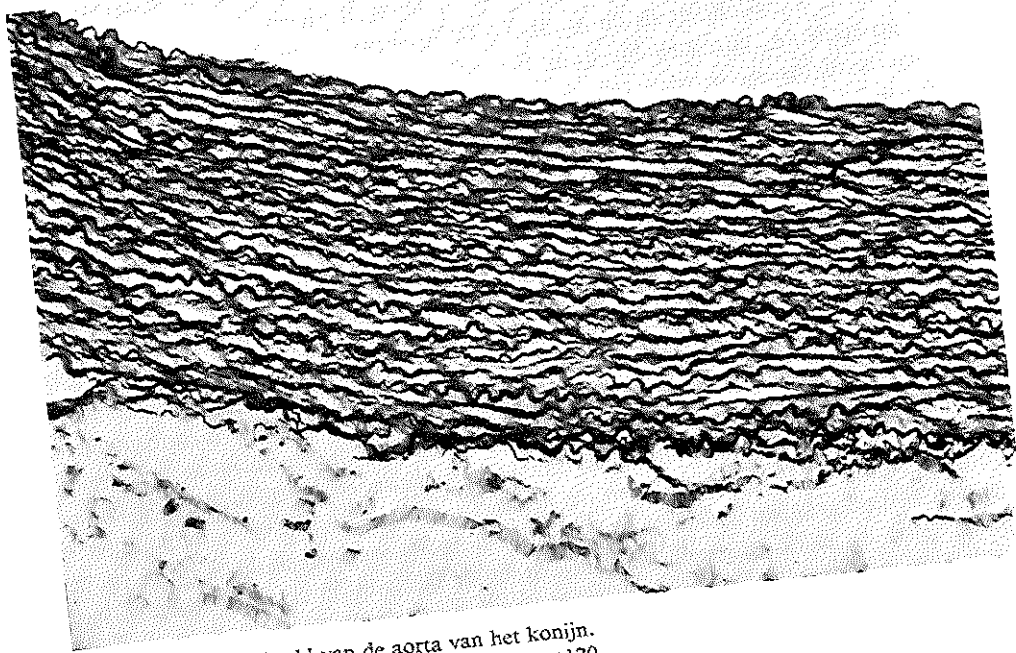


Fig. 27. Normaal beeld van de aorta van het konijn.
Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 120$.

gevoederde groep 5. Het is aannemelijk – en de bovengenoemde resultaten wijzen eveneens in deze richting – dat de fibrose een reactie is op de hartspierbeschadiging. Voor deze zienswijze pleit in de eerste plaats dat de hartspierafwijking en de bindweefseltoename allebei een duidelijke afhankelijkheid van de dosis vertonen. Als door een grotere stralingsdosis de afwijkingen van het myocard toenemen, is het logisch, dat de reactie op deze schade i.c. de fibrose, ook met de dosis toeneemt. Ten tweede komt de fibrose slechts voor in die gevallen, waar ook een myocardlesie werd aangetroffen met uitzondering van een zeer geringe bindweefseltoename bij konijn 23 uit groep 6. Tenslotte pleit voor de opvatting dat de fibrose secundair is aan de myocardbeschadiging het feit, dat het optreden van bindweefselproliferatie in pathologisch veranderd weefsel een bekend verschijnsel is. Enig verband tussen de myocarddegeneratie en de fibrose enerzijds en de afwijkingen aan de a. coronaria anderzijds kan uit tabel XIV niet worden opgemaakt. Bij de bestraalde groepen 2, 3 en 4 werden bij enkele exemplaren vaatlesies aangetroffen. Vaker en meer uitgesproken zijn deze in alle met cholesterol gevoederde groepen, doch voor een goede vergelijking met de normaal gevoederde dieren in de groepen 1 tot en met 4 zijn de verschillen te gering. Bij de bestraalde en met cholesterol gevoederde groepen 6, 7 en 8 komen de vaatlesies echter in zo'n sterke mate voor, dat het waarschijnlijk is, dat de cholesterolvoeding en de bestraling elkaars werking versterken.

De aorta

In vrijwel alle groepen werden min of meer ernstige afwijkingen aangetroffen aan de gehele aorta met uitzondering van de pars abdominalis, die bij alle konijnen van experiment I een normaal aspect had.

De pathologische beelden zijn: a. plaquevorming in de intima en aanwezigheid van lipofagen in de media; b. spierdegeneratie; c. elastinedegeneratie; d. kalkafzetting.

ad a. De verdikking van de intima wordt veroorzaakt door ophoping van lipiden, die veelal door lipofagen zijn gefagocyteerd, maar soms ook extracellulair liggen (fig. 26 en 28). Vaak is de grens met de media scherp, doch men treft soms wel een onderbreking hiervan aan, waarbij soedanofoel materiaal tussen de spiercellen ligt. Waar de plaquevorming het meest is uitgesproken, vindt men celverval met organisatie door bindweefselcellen en neerslag van kalk. Het endotheel is over het algemeen intact. Enkele malen wordt ulceratie gezien, voornamelijk in die gevallen, waar fibrose en kalk een belangrijk deel van de wandverdikking uitmaken (fig. 29 en 30). Trombusvorming werd op geen enkele plaats aangetroffen.

ad b. Bij vrijwel alle bestraalde konijnen van deze proef vindt men in de media gezwollen spiercellen, die verminderd kleurbaar zijn, terwijl de kernen polymorfie en pycnose vertonen. Soms zijn de spiercellen bijna verdwenen en hebben dan het aspect van „schimcellen” (fig. 32 en 33). In andere gevallen zijn de spiercellen geheel verdwenen, waardoor tussen het elastineskelet optisch lege ruimten zijn ontstaan.

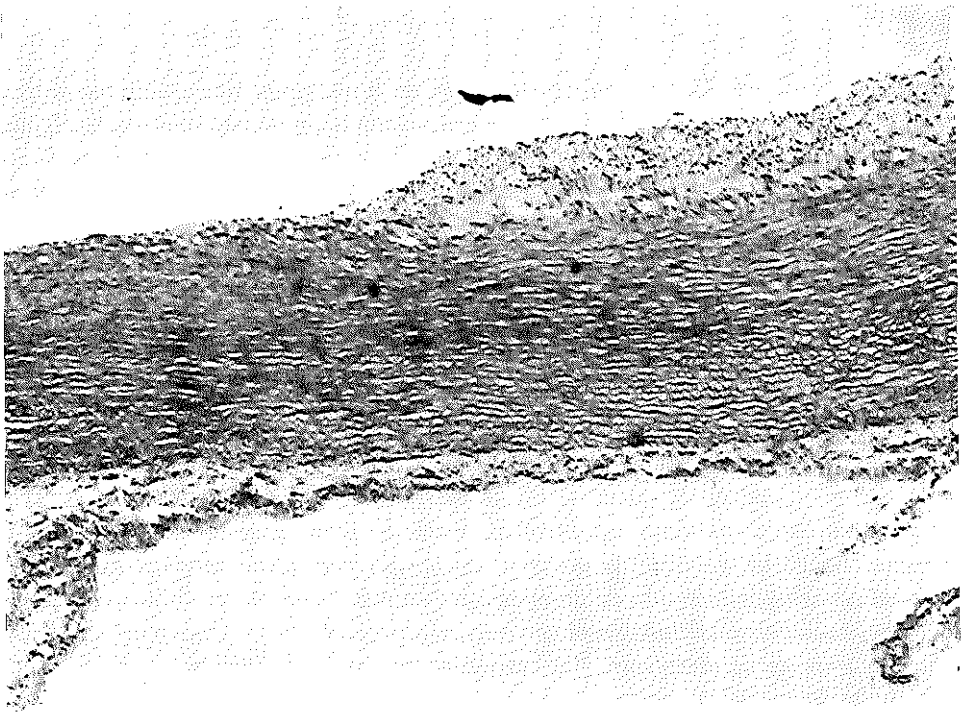


Fig. 28. Plaquevorming met plaatselijke uitbreiding in de media.
Aorta van mannelijk konijn; 0.2 gew.% cholesterol; 4000 R.
HE. kleuring; $\times 40$.

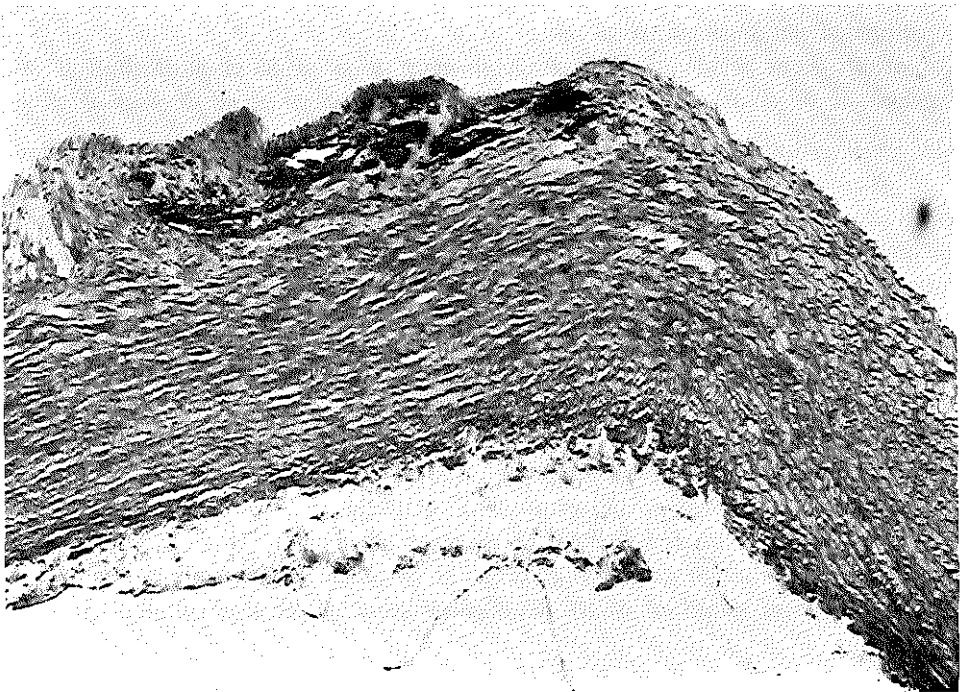


Fig. 29. Plaque met fibrose en kalk, die voornamelijk tot de intima beperkt is.
Aorta van mannelijk konijn; 0.2 gew.% cholesterol; 6000 R.
HE. kleuring; $\times 40$.

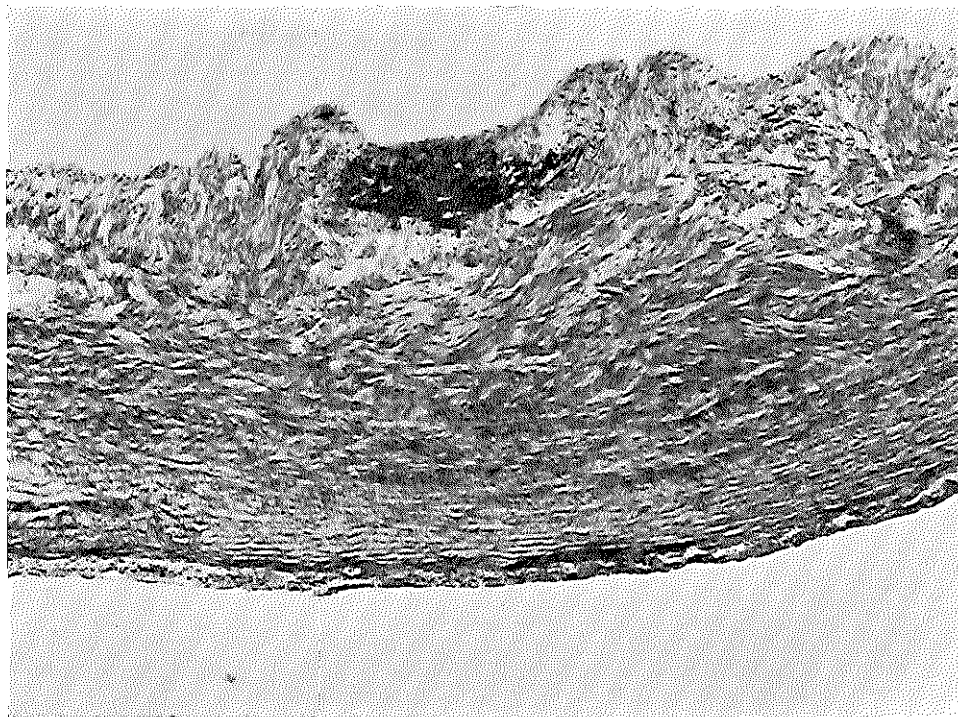


Fig. 30. Kalkbevattende plaque met ulceratie en fibrose en doorbreking van de grens met de media. Aorta van mannelijk konijn; 0,2 gew.% cholesterol; 6000 R. HE. kleuring; $\times 40$.

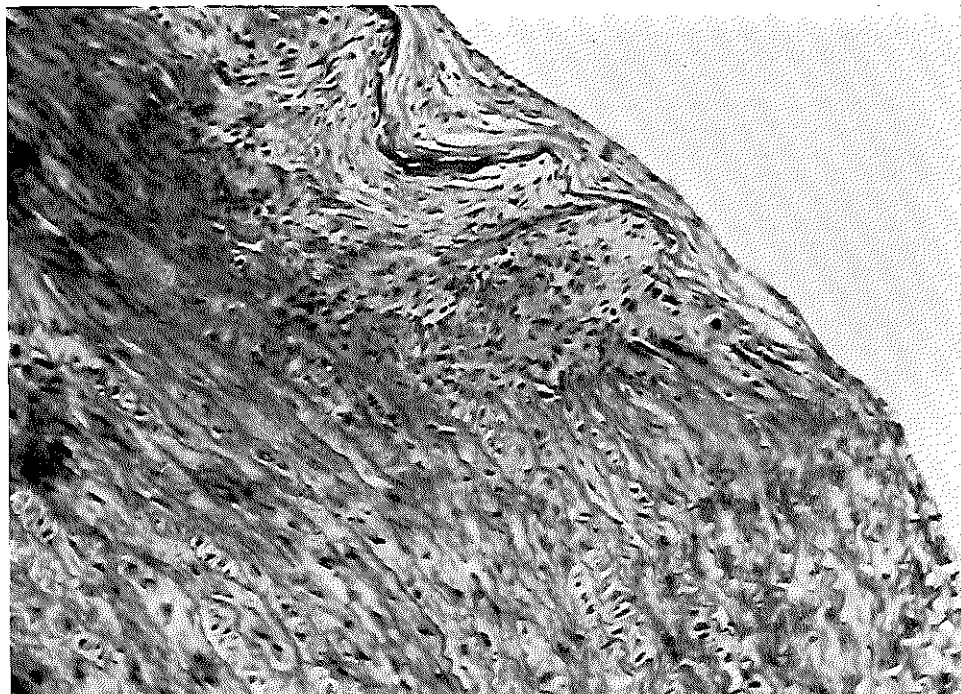


Fig. 31. Coupe door een porseleinachtig plekje; sclerose met fragmentatie van elastinevezels, bindweefselreactie en kalk. Aorta van mannelijk konijn; normaal voer; onbestraald. HE. kleuring; $\times 120$.

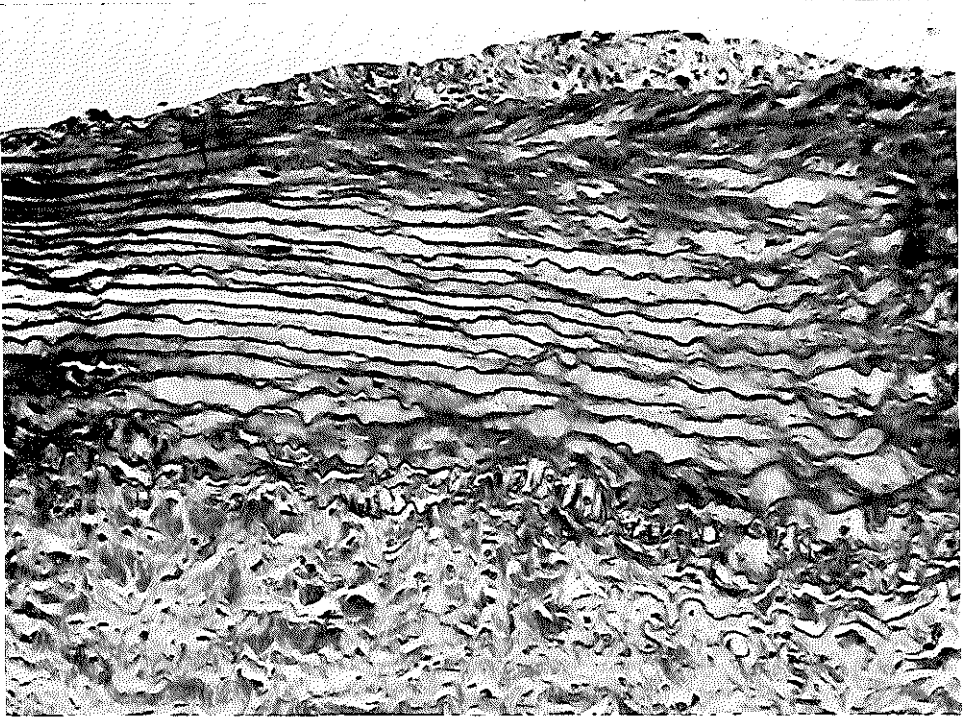


Fig. 32. Gezwollen, weinig kleurbare spiercellen en uit elkaar wijken van de elastinevezels in de media.
Aorta van mannelijk konijn; 0,2 gew.% cholesterol; 4000 R.
HE. kleuring; $\times 120$.

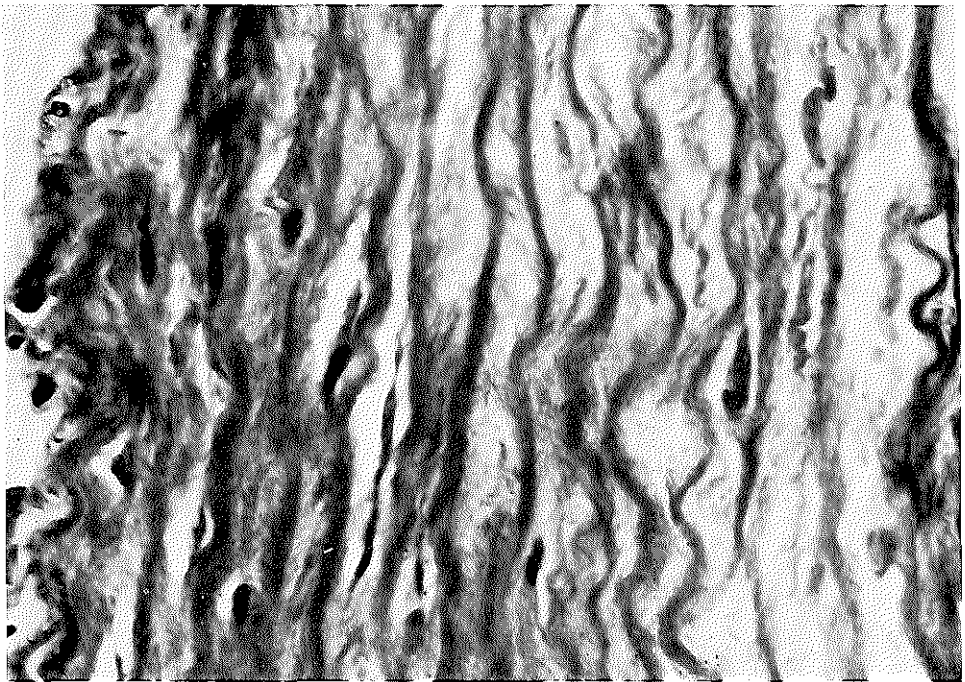


Fig. 33. Detail van de in fig. 32 afgebeelde aorta.
De tot „schimcellen” geworden, gezwollen, slecht kleurbare spiercellen.
HE. kleuring; $\times 400$.

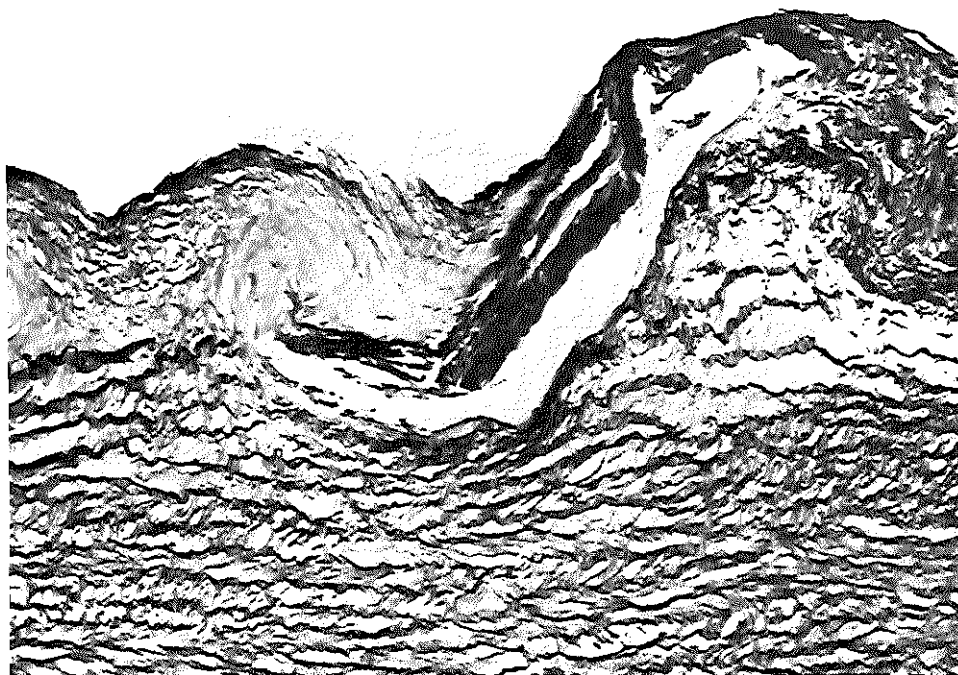


Fig. 34. Kalkbevattende plaque met opsplitsen en fragmentatie van het elastineskelet.
Aorta van mannelijk konijn; 0,2 gew.% cholesterol; 6000 R.
Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 120$.

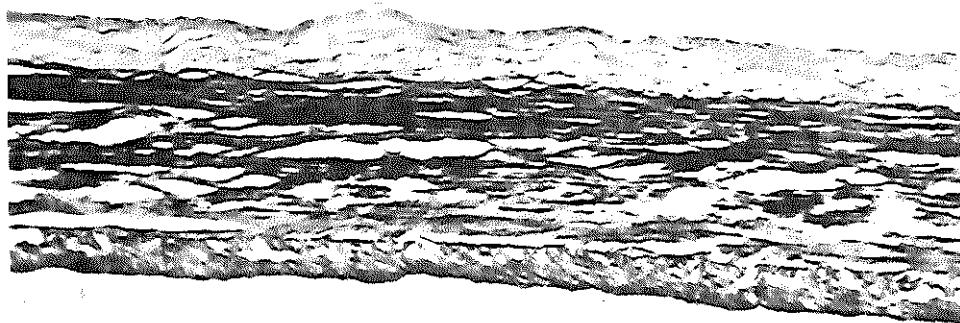


Fig. 35. Verkalking van vrijwel de ghele media.
Aorta van mannelijk konijn; 0,2 gew.% cholesterol; 2000 R.
HE. kleuring; $\times 40$.

Tabel XV. Microscopische afwijkingen van de aorta bij het konijnenexperiment I.

groepen		konijn	plaques	lipofagen in media	spier- degeneratie	elastine- degeneratie	kalk
normaal voer	1. onbestraald	1	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	+	+
		3	-	-	-	-	-
	2. 2000 R	4	-	-	-	+	-
		5	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-
	3. 4000 R	7	-	+	+	++	+++
		8	-	+	++	++	-
		9	-	-	-	+	+
	4. 6000 R	10	-	-	++	++	+
		11	++	-	++	+++	+++
		12	+	-	++	++	++
0,2 gew.% cholesterol	5. onbestraald	13	-	-	-	-	-
		14	+	+	-	-	-
		15	-	-	-	-	-
		16	-	-	-	-	-
		17	++	++	-	+	++
		18	-	-	-	-	-
		19	+	-	-	-	-
		20	+	-	-	-	-
	6. 2000 R	21	+	-	-	-	-
		22	+++	+	-	+++	++
		23	-	-	+	-	-
		24	+	+	-	-	-
		25	-	-	+	+	-
		26	-	-	++	+	+
		27	++	-	-	-	-
		28	+++	++	-	++	+++
	7. 4000 R	29	++	-	+	++	-
		30	+++	++	++	++	-
		31	+	+	-	+	-
		32	+	-	+	++	++
		33	+	+	-	+	-
		34	-	-	+	++	++
		35	+	-	++	+++	-
		36	-	-	+	+	-
	8. 6000 R	37	++	+	+	+	++
		38	++	-	+	+	++
		39	++	+	+	++	++
		40	+	-	++	+++	+++
		41	-	-	+	+	-
		42	++	-	++	+	++
		43	+	-	-	-	-
		44	++	++	++	++	++

classificatie van de plaques:

- = ontbreken van plaques

+ = intima tot 1 × mediadikte

++ = intima 1 tot 2 × mediadikte

+++ = intima meer dan 2 × mediadikte

Classificatie van lipofagen in de media, spierdegeneratie, elastinedegeneratie en kalkafzetting met +,

++ en +++: de geschatte uitgebreidheid van de betreffende afwijking (zie tekst).

ad c. De elastinevezels zijn ter plaatse van de gezwollen spiercellen uit elkaar gedrongen. Waar het weefselverval sterk is en men bindweefselorganisatie en kalk aantreft, komt het zelfs tot opsplitsing en verbrokkeling van de elastinemembranen (fig. 27 en 34).

ad d. Afgezien van de reeds genoemde kalkafzetting, die voornamelijk in die plaques voorkomt, waarbij weefselverval is te zien, treft men bij veel konijnen uitgebreide kalkdepots aan in de media. Bij enkele exemplaren strekken deze zich over vrijwel de gehele media uit (fig. 35). Spiervezels en elastineapparaat zijn op die plaatsen nauwelijks of niet meer te herkennen. De intima kan bij deze sterke media-afwijking nog geheel intact zijn. Dergelijke beelden doen sterk denken aan die, welke gezien worden bij de sclerose van Mönckeberg, een vorm van arteriosclerose, die bij de mens voorkomt in de middelgrote arteriën van extremiteiten, uterus en ovaria en waarbij kalk in de media wordt afgezet. Ongeacht de plaats waar de kalk in onderhavig experiment wordt aangetroffen, vindt men behalve deze afwijking veel fibroblasten en groepen lymfocyten, waarschijnlijk mede een reactie op het verval van weefsel.

De adventitia had bij alle dieren een normaal aspect. Dit geldt speciaal voor de vasa vasorum, waaraan geen lesies werden aangetroffen, zodat men hieruit mag concluderen, dat de beschreven afwijkingen een direct gevolg zijn van de bestraling en het cholesteroldieet en dat deze niet secundair zijn ontstaan door afwijkingen aan de vasa vasorum.

In tabel XV zijn de aorta-afwijkingen aangegeven voor de diverse groepen. Bij de classificatie van de plaquevorming is de dikte vergeleken met die van de media en gerubriceerd zoals in tabel XIV bij de coronaria-afwijkingen met +, ++ en +++. Wat betreft de bevinding van lipofagen in de media, de spierdegeneratie, de elastinedegeneratie en de kalkafzetting is de geschatte gradering +, ++ en +++. Kwamen de lipofagen in de media niet vaker voor dan op enkele plaatsen en in kleine groepjes, dan bedroeg de gradatie ++. Werden slechts een enkele maal deze cellen in de media gezien, dan werd + genoteerd. De spierdegeneratie strekte zich in verschillende preparaten uit tot bijna de halve dikte van de pars media en werd in die gevallen met ++ aangegeven. Voor zover de degeneratie minder dan één derde deel van de media betrof, werd + gebruikt. Wat de gradatie van de elastineafwijking betreft, als deze de helft of meer van het elastineapparaat bedroeg, dan werd de gradatie +++ gebruikt. Bij minder dan de helft en meer dan één derde deel ++ en bij de elastineafwijking van minder dan één derde deel +. Bij de rubricering van de kalkafzetting werd geen onderscheid gemaakt naar de localisatie van de afzetting. Bedroeg op een enkele plaats de kalkneerslag meer dan de helft van de betreffende aortalaag, dan werd +++ genoteerd. Bij minder dan de helft ++ en bij minder dan één derde deel +.

Uit de in tabel XV weergegeven verdeling van de afwijkingen bij de diverse groepen blijkt plaquevorming bij de meerderheid van alle met cholesterol gevoederde dieren

voor te komen. Bij de bestraalde konijnen van deze met cholesterol gevoederde groepen is de vaatwandverdikking echter duidelijk sterker dan bij de onbestraalde exemplaren. Men mag op grond hiervan dan ook aannemen, dat door de bestraling de ophoping van lipiden en lipofagen in de intima wordt bevorderd. Een verband met de dosis komt echter niet tot uiting. Bij een stralingseffect past de bevinding, dat zowel plaquevorming als lipofagen werden aangetroffen bij enkele normaal gevoederde konijnen die een hoge stralingsdosis (4000 R) hadden ontvangen. Overigens levert de lipofagendistributie geen nieuwe gezichtspunten op betreffende het effect van de bestraling en het cholesteroldeet.

De degeneratie van de spiercellen in de media komt bij vrijwel alle bestraalde konijnen voor en er is geen relatie met het gegeven voer. Deze spierdegeneratie moet dus worden opgevat als een stralingseffect, waarbij er tevens een duidelijke aanwijzing bestaat voor een dosisafhankelijkheid (vergelijk groep 2, 3, 4 en 6, 7, 8).

Afwijkingen aan de elastinevezels komen voor bij alle groepen, doch er bestaat duidelijk voorkeur voor de bestraalde exemplaren, ongeacht de aard van het voer.

Kalkafzetting werd voornamelijk aangetroffen bij bestraalde konijnen. De verdeling over de diverse groepen wijst op een dosis-effectrelatie. Bij een normaal ge-

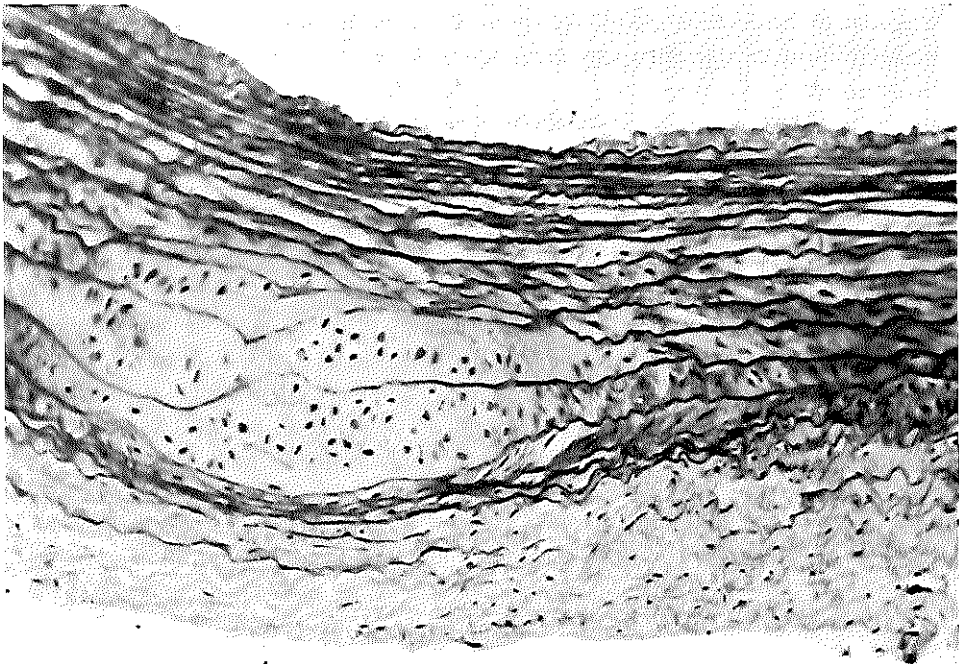


Fig. 36. Kraakbeen in de media met spiercelverval en opsplitsen van het elastineapparaat. Aorta van mannelijk konijn; 0,2 gew.% cholesterol; 6000 R. HE. kleuring; $\times 120$.

voederd, onbestraald konijn, waarbij de coupe is genomen door een porseleinachtig plekje, bleek er op de grens van intima en media een fragmentatie te bestaan van de elastinevezels met bindweefselreactie en kalkneerslag (fig. 31). Men ontkomt niet aan de indruk, dat in de aortawand van het in experiment I gebruikte konijneras afwijkingen voorkomen, die vooral na bestraling aanleiding geven tot het ontstaan van ernstige beschadigingen, die zich over de gehele vaatwand uitstrekken.

In enige coupes van met cholesterol gevoederde konijnen, waarbij 6000 R op de aortawand was gegeven, waren nesten kraakbeencellen te zien (fig. 36). Deze zijn gelegen in de media, die overigens ook in sterke mate de beschreven spierdegeneratie en opsplitsing van het elastineapparaat toonde.

Hueper [70] beschreef reeds in 1925 het voorkomen van kraakbeen in de aortawand zonder dat hij hieraan pathologische betekenis toekende. Dit neemt niet weg, dat deze auteur de mogelijkheid openlaat, dat kraakbeenhaarden ook kunnen ontstaan als uiting van een pathologisch gebeuren. Het feit, dat bij onderhavig onderzoek de kraakbeenpartijen slechts werden gezien bij de aortae van bestraalde dieren, die overigens ook andere afwijkingen vertoonden, suggereert een verband met de röntgenbestraling.

De overige organen

Er werden bij de konijnen van experiment I microscopisch geen afwijkingen gevonden, die van invloed konden zijn op de beschreven lesies van hart en aorta. Bij een aantal exemplaren uit alle met cholesterol gevoederde groepen was er in de hoofdtakken van de a. pulmonalis plaquevorming, die bestond uit ophoping van lipiden en lipofagen, zonder bindweefselreactie en zonder kalkafzetting. Het endotheel was intact en de dikte van de plaque was nooit meer dan 1 maal die van de media, zodat van ernstige vernauwing van het lumen geen sprake was. In de milt van enkele bestraalde zowel als onbestraalde met cholesterol gevoederde konijnen werden lipofagen aangetroffen. Enkele malen was er in de met cholesterol gevoederde groep een toename van vetcellen in de lever, die voornamelijk pericentraal waren gelokaliseerd.

b. *Het konijnenexperiment II*

Het hart

In het hart van de konijnen bij deze proefopstelling werden in principe dezelfde afwijkingen aangetroffen als bij experiment I. Deze bevindingen zijn voor de verschillende konijnen uit de diverse groepen in tabel XVI weergegeven. Afhankelijk van de ernst van deze lesies werd volgens dezelfde criteria een gradatie van +, ++ en +++ gegeven.

De myocardegeneratie en de fibrose onderscheiden zich noch wat het aspect en noch wat de plaats betreft van de uit experiment I bekende beelden (fig. 37 en 38). Ditzelfde geldt voor de afwijkingen aan de a. coronaria, hoewel men hier de indruk

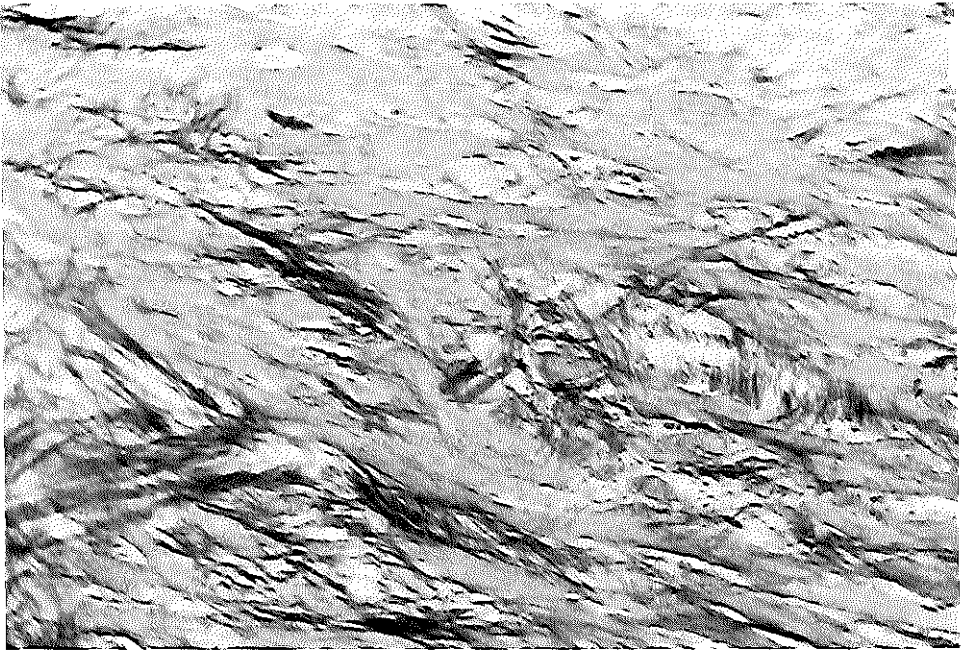


Fig. 37. Diffuse fibrose van het myocard met structuurverlies van de spiervezels.
 Vrouwelijk konijn; 0,5 gew.% cholesterol; 5000 R.
 Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 40$.

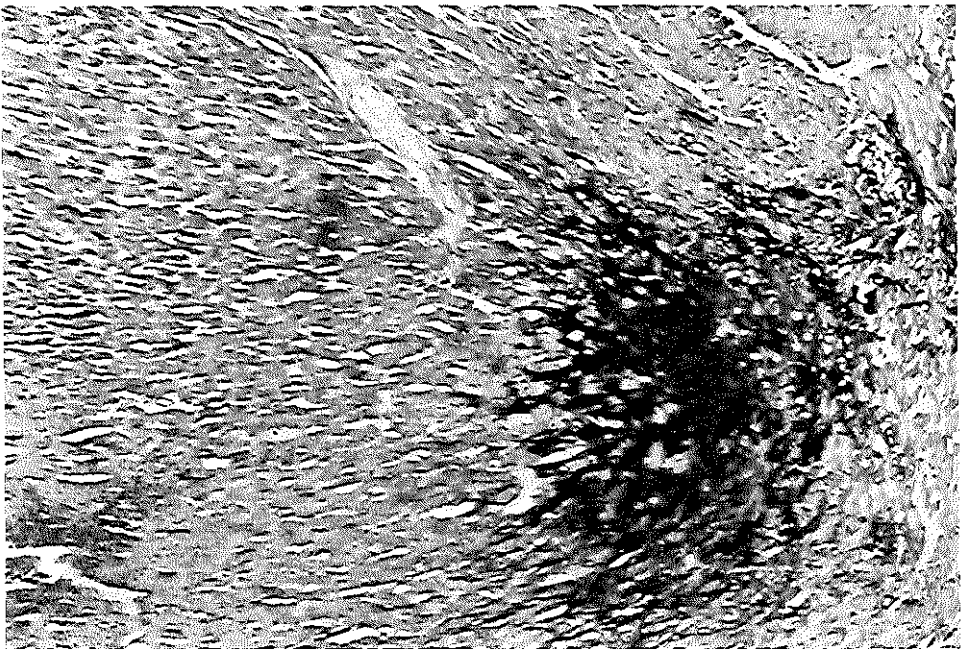


Fig. 38. Haardvormige fibrose van het myocard.
 Vrouwelijk konijn; 0,5 gew.% cholesterol; 1650 R.
 Azankleuring volgens Heidenhain; $\times 40$.

Tabel XVI. Microscopische afwijkingen van het hart bij het konijnenexperiment II.

groepen		konijn	myocard-degeneratie	myocard-fibrose	afwijkende a.coronaria
normaal voer	1. onbestraald	1	-	-	-
		2	-	-	-
		3	-	-	-
		4	-	-	-
		5	-	-	-
		6	-	-	-
		7	-	-	-
		8	-	-	-
	2. 5000 R	9	+	-	-
		10	++	+	-
		11	+	-	-
		12	++	-	-
		13	+	-	-
		14	-	-	-
		15	+++	++	+
		16	+	-	-
0,5 gew.% cholesterol	3. onbestraald	17	-	-	-
		18	-	-	++
		19	-	-	++
		20	+	-	++
		21	-	-	+
		22	-	-	-
		23	+	-	++
		24	-	-	+
	4. 5000 R	25	+++	++	++
		26	-	-	-
		27	+	-	+
		28	+	-	-
		29	++	+	++
		30	+++	++	-
		31	++	+	++
		32	+	+	++
		33a (1650 R)	++	++	+
		33b	+++	+++	++
		34	-	-	++
		35	++	++	++
		36	++	++	+
		37	+	-	+
		38	++	+	+
		39	++	+	++
		40	++	++	++

Classificatie van de myocarddegeneratie en de fibrose met +, ++ en +++, afhankelijk van de geschatte uitgebreidheid (zie tekst).

Classificatie van de coronaria-afwijkingen;

- = ontbreken van afwijkingen

+

++ = intima tot 1 × mediadikte

+++ = intima van 1 tot 2 × mediadikte

+++ = intima meer dan 2 × mediadikte.

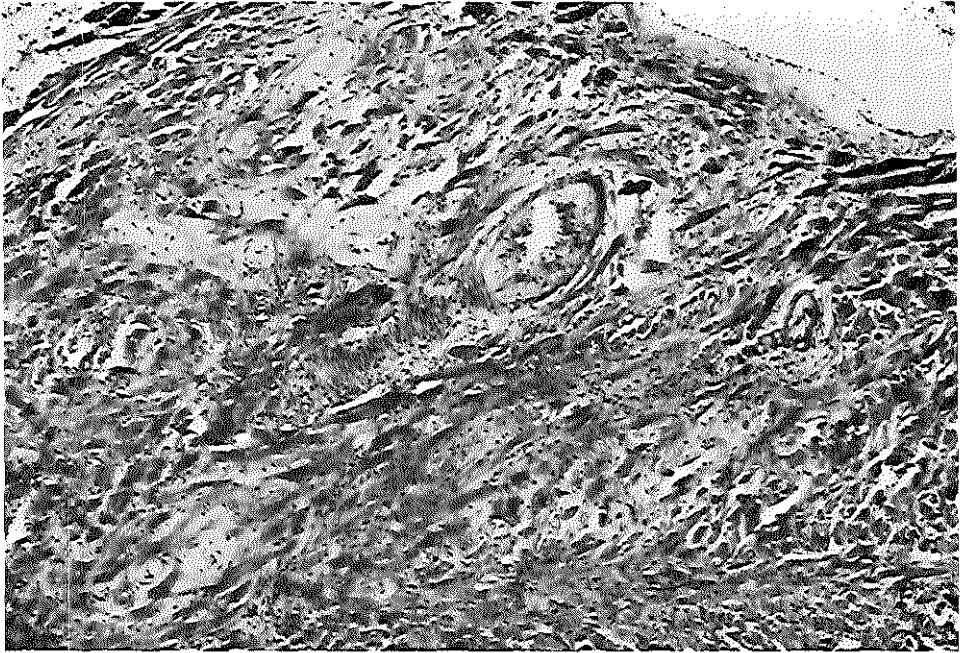


Fig. 39. Onregelmatige kleurbaarheid van de hartspiervezels en vernauwing van arterietakken door ophoping van lipofagen en hyalinose.
 Vrouwelijk konijn; 0,5 gew.% cholesterol; 5000 R.
 HE. kleuring; $\times 40$.

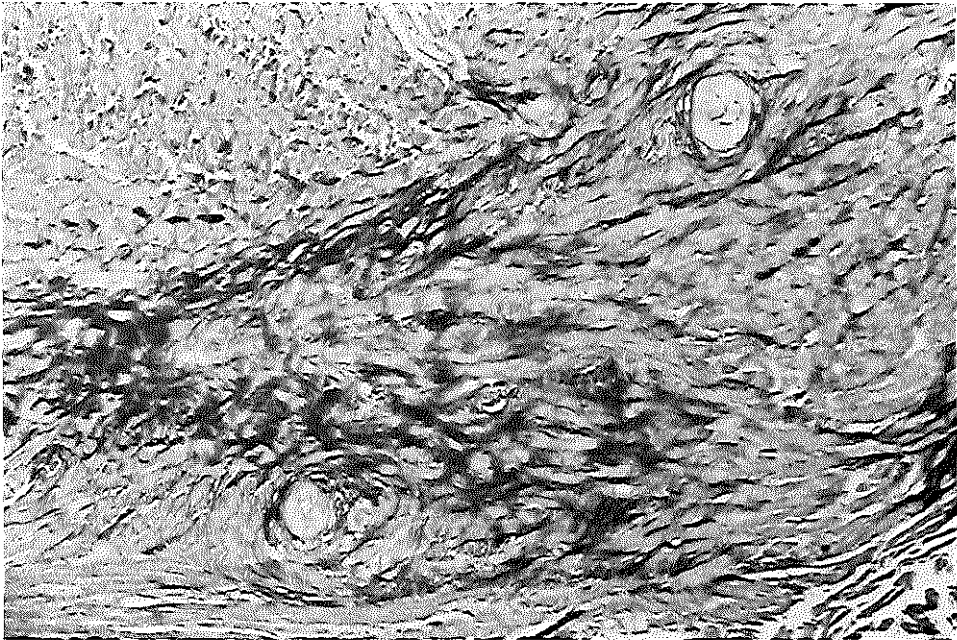


Fig. 40. Degeneratie van de hartspier met bindweefseltoename en vernauwing van arterietakken door ophoping van lipofagen en hyalinose.
 Vrouwelijk konijn; 0,5 gew.% cholesterol; 5000 R.
 Azankleuring volgens Heidenhain; $\times 40$.

heeft, dat de vaatwandverdikking vaker door lipofagenophoping, dan door hyalinose wordt veroorzaakt (fig. 39 en 40).

Infiltraten van lymfocyten, die bij verschillende konijnen van experiment I diffuus in het normale en veranderde myocard werden aangetroffen, vindt men bij deze tweede groep vrijwel niet. Wel zijn er hier en daar groepjes lymfocyten te zien, maar deze bevinden zich slechts op plaatsen van veranderd spierweefsel en kunnen opgevat worden als een reactie op deze verandering.

In enkele coupes, waar het endo-, epi- en pericard werd getroffen, is er enige verdikking door ophoping van lipofagen en bindweefselvermeerdering met infiltraten van lymfocyten.

De bij de macroscopie beschreven pericarditis van een normaal gevoederd en onbestraald konijn bleek van aspecifieke aard te zijn. In de uitgebreide infiltraten van het pericard, die voornamelijk uit polynucleaire leucocyten en fibrine bestonden, bevonden zich necrosehaarden, die ten dele verkalkt waren.

Bij 3 bestraalde, met cholesterol gevoederde konijnen werd op de grens van het linker atrium en de linker ventrikel in de annulus fibrosus haarden van kraakbeen gevonden. Het betrof hier een waarneming bij harten met ernstige degeneratieve veranderingen in het myocard. Toch mag het voorkomen van kraakbeen niet zonder meer opgevat worden als een direkt gevolg van de bestraling. Seegal en Seegal [129] beschreven in 1927 reeds het voorkomen van kraakbeenhaarden in het normale konijnenhart. Hieraan behoeft volgens genoemde auteurs geen pathologische betekenis te worden toegekend, ofschoon het mogelijk is, dat het kraakbeenweefsel opgevat moet worden als een chondroïde metaplasie van bindweefsel, hetgeen gezien kan worden als een reactie op allerlei noxen en op druk [112].

Bekijkt men de verdeling van de pathologische afwijkingen van het myocard over de diverse groepen van experiment II in tabel XVI, dan blijkt deze in grote lijnen overeen te komen met die van experiment I. Er bestaat wederom een duidelijk effect van de bestraling op het ontstaan van degeneratieve hartspierafwijkingen. Bij de onbestraalde, met cholesterol gevoederde groep kwam in 2 gevallen wel myocarddegeneratie voor, maar deze was slechts gering en leek verband te houden met de vaatafwijkingen die bij beide konijnen bestonden. Fibrose van het myocard trof men uitsluitend bij de bestraalde groepen aan, zodat men een stralingseffect moet aannemen, al was deze bindweefselvorming bij de met cholesterol gevoederde groepen frequenter en sterker. Daar de ernst van de fibrose parallel loopt met die van de myocarddegeneratie in de beide bestraalde groepen, kan men hierin een bevestiging zien van de opvatting, dat ook bij deze proefopstelling de fibrose eerder een gevolg is van de myocardverandering dan een reactie op de vaatlesies, zoals reeds bij het vorige experiment uitvoerig is gemotiveerd. De afwijkingen aan de takken van de a. coronaria zijn blijkens de verdeling over de diverse groepen voornamelijk een gevolg van het cholesteroldieet, hoewel het voorkomen bij één exemplaar uit de normaal gevoederde en bestraalde groep enig effect van de bestraling niet lijkt uit te sluiten.

Tabel XVII. Microscopische afwijkingen van de aorta bij het konijnenexperiment II.

groepen		konijn	plaques	lipofagen in media	spier- degeneratie	elastine- degeneratie	kalk
normaal voer	1. onbestraald	1	-	-	-	-	-
		2	+	-	-	-	-
		3	+	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-
		5	+	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-
		7	-	-	-	-	-
		8	-	-	-	-	-
	2. 5000 R	9	+	-	++	++	-
		10	-	-	-	-	-
		11	+	-	-	-	-
		12	-	-	-	-	-
		13	-	-	-	-	-
		14	-	-	-	-	-
		15	-	-	++	++	-
		16	-	-	-	-	-
0,5 gew.% cholesterol	3. onbestraald	17	++	+	-	-	-
		18	++	+	-	-	-
		19	+++	+	-	-	-
		20	+++	-	-	-	-
		21	++	++	-	-	-
		22	+++	+	-	-	-
		23	+++	+	-	-	-
		24	+++	++	-	-	-
	4. 5000 R	25	++	+	++	-	-
		26	++	+	-	-	-
		27	+++	++	-	-	-
		28	+++	+	-	++	-
		29	+++	+	-	-	-
		30	+++	+	-	-	-
		31	+++	++	-	+	-
		32	+++	-	-	-	-
		33a (1650 R)	++	-	-	-	-
		33b	++	++	++	++	-
		34	+++	+	-	++	-
		35	++	++	+	-	-
		36	++	+	-	-	-
		37	++	-	-	-	-
		38	+++	+	-	-	-
		39	+++	++	-	++	-
		40	+++	+	-	-	-

Classificatie van de plaques:

- = ontbreken van plaques

+ = intima tot 1 × mediadikte

++ = intima 1 tot 2 × mediadikte

+++ = intima meer dan 2 × mediadikte

Classificatie van lipofagen in de media, spierdegeneratie en elastinedegeneratie met +, ++ en +++ : de geschatte uitgebreidheid van de betreffende afwijking (zie tekst).

De aorta

De veranderingen aan de aorta bij dit experiment tonen kwalitatief overeenkomst met die van proef I. Ook hier treft men plaquevorming, lipofagenophoping en spier- en elastinedegeneratie aan. Kalkneerslag kwam echter in geen enkele aortacoupe voor. De afwijkingen zijn in tabel XVII op dezelfde wijze als bij het vorige onderzoek gerangschikt.

De intimaverdikking (plaques) komt bij onderhavig experiment in de gehele aorta voor, in tegenstelling tot proef I, waar de pars abdominalis steeds een normaal aspect had. Wel is bij de vrouwelijke konijnen de verdikking van de abdominale aorta minder dan boven het diafragma, hetgeen reeds bij het macroscopisch onderzoek kon worden vastgesteld. De plaques bestaan voornamelijk uit lipiden, die voor een belangrijk deel zijn gefagocyteerd (fig. 41). Nergens treft men een zo sterk verval van fagocyten aan, dat dit tot fibrose of kalkafzetting aanleiding heeft gegeven. Een uitbreiding tot in de media komt regelmatig voor (fig. 42). Het endotheel is over het algemeen intact en trombusvorming werd ook hier nooit waargenomen.

Een intimaverdikking komt bij de 8 normaal gevoederde, onbestraalde konijnen van experiment II in 3 gevallen voor, terwijl in experiment I dit kenmerk bij de normaal gevoederde dieren alleen voorkwam bij de hoogst bestraalde groep. Dit kan mogelijk verklaard worden door het feit, dat in experiment II oudere konijnen zijn gebruikt, hoewel in de literatuur vermeld wordt, dat de leeftijd van het konijn niet van invloed is op het ontstaan van atherosclerose [4]. Een effect van de bestraling is gezien de verdeling van deze afwijking over de verschillende groepen niet aantoonbaar. De plaquevorming is bij de met cholesterol gevoederde groepen 3 en 4 veel sterker dan bij de normaal gevoederde dieren. Ook is deze sterker dan bij de met cholesterol gevoederde exemplaren van experiment I. Vergelijkt men groep 3 en 4, dan blijkt deze lesie in dezelfde mate voor te komen bij de onbestraalde als bij de bestraalde groepen. De plaquevorming is hier vrijwel maximaal, waardoor een effect van de bestraling zoals dit bij experiment I bestond, hier mogelijk niet tot uiting kon komen.

De ophoping van lipofagen in de media komt uitsluitend voor na cholesterolvoeding en enige invloed van bestraling kan ook hier niet worden aangetoond.

De spierdegeneratie in de pars media van de aorta, die uitsluitend in het thoracale deel werd gezien, lijkt duidelijk op een stralingseffect te berusten, omdat deze uitsluitend bij de bestraalde groepen voorkomt. Het cholesteroldieet heeft blijkens de gelijke verdeling in de 2 bestraalde groepen geen invloed. Deze bevinding is geheel conform de waarneming bij experiment I.

Ditzelfde geldt voor de elastineafwijking, die eveneens en uitsluitend boven het diafragma voorkomt bij beide bestraalde groepen 2 en 3, zonder aantoonbaar effect van het cholesteroldieet. Het gaat om een uit elkaar dringen van de elastinevezels door gezwollen spiercellen. De beelden van verbrokkeling en opsplitsing van het elastineapparaat die uit het experiment I bekend waren, werden in de aortae van de vrouwelijke konijnen niet aangetroffen.

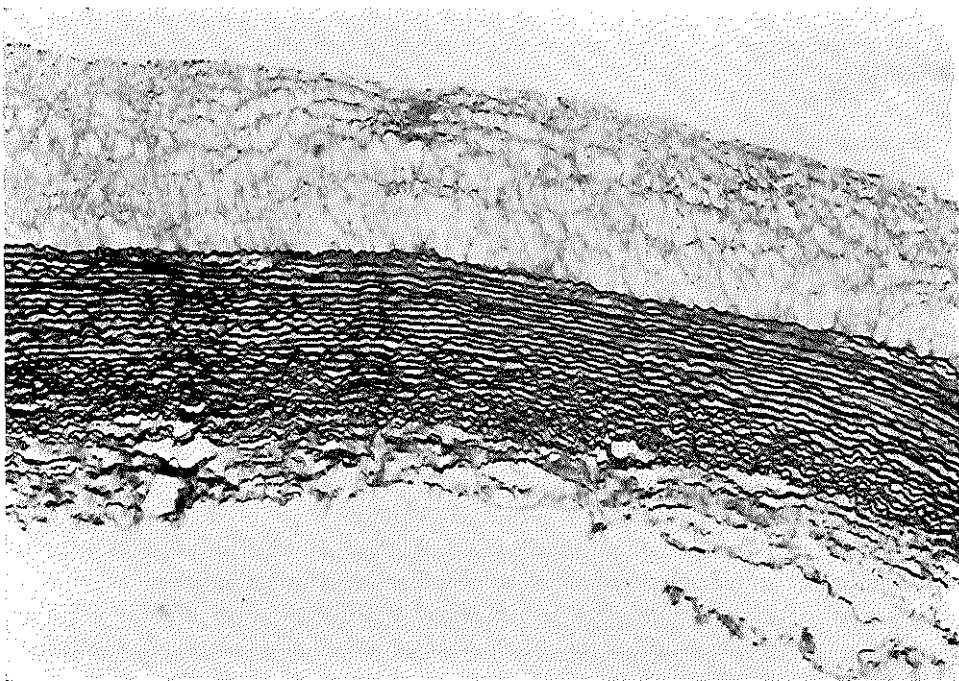


Fig. 41. Intimaverdikking van de aorta door ophoping van lipiden en lipofagen met scherpe begrenzing ten opzichte van de media; regelmatig elastinepatroon.
 Vrouwelijk konijn; 0,5 gew.% cholesterol; 5000 R.
 Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 40$.

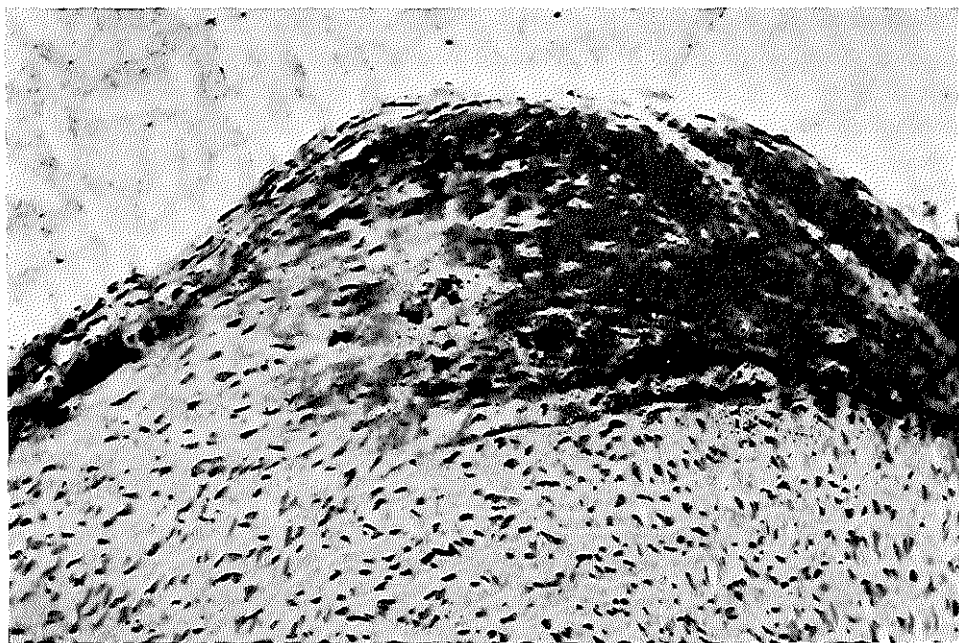


Fig. 42. Intimaverdikking van de aorta door ophoping van lipiden en lipofagen met uitbreiding in de media.
 Vrouwelijk konijn; 0,5 gew.% cholesterol; onbestraald.
 Soedan III-kleuring; $\times 120$.

De overige organen

Bij 2 met cholesterol gevoederde en onbestraalde konijnen werden afwijkingen gevonden aan de lever, die macroscopisch een korrelig aspect had. Bij microscopisch onderzoek bleken er pericentraal infiltraten te zijn, die bestonden uit lymfocyten en segmentkernigen. Er was in deze gebieden een duidelijke vermeerdering van bindweefsel, waardoor het gehele beeld op dat van een hepatitis leek. Mogelijk is dit een gevolg van een leptospirose-infectie, waarvan het bekend is, dat deze frequent bij konijnen voorkomt.

Bij verschillende met cholesterol gevoederde konijnen kwam in de a. pulmonalis een intimaverdikking voor, bestaande uit lipiden en lipofagen. Meer dan 1 maal de dikte van de media hadden deze plaques vrijwel nergens en van een uitgesproken vernauwing van het vaatlumen was dan ook nooit sprake.

Proeven met de rhesusapen

Het hart

Microscopisch normale beelden werden aangetroffen bij de 6 controleapen en bij 3 van de bestraalde dieren (fig. 43, 44 en 45). Bij de andere 3 bestraalde apen kwamen afwijkingen voor en de verdeling hiervan is schematisch weergegeven in tabel XVIII. In het myocard bevonden zich haarden van gezwollen en onregelmatig kleurbare spiercellen, waarvan de dwarsstreping minder goed zichtbaar was. Deze beelden waren echter niet zo overtuigend als bij de proeven met de konijnen, zodat een aanvullende kleuring met fosforwolframaamzuur-haematoxyline volgens Mallory (PTAH) werd gedaan. In deze preparaten was de dwarsstreping overal zichtbaar. De onregelmatige kleurbaarheid bleek te berusten op verschillende mate van contractie der myofibrillen, zodat bij de aap het beeld van myocytolyse niet kan worden aangetoond. Wel bestonden er plaatselijk polymorfie en pycnose van de celkernen van de spiercellen en in deze gebieden diffuus een toename van fibroblasten (fig. 46 en 47). De polymorfie van de kernen kan, evenals de pycnose, wijzen op een bestralingseffect, maar kan ook het gevolg zijn van hypertrofie van de hartspier. Aangezien er bij het macroscopisch onderzoek geen reden was om een hypertrofie aan te nemen, is het waarschijnlijker dat deze afwijkingen verband houden met de bestraling. Hierop wijst tevens de bindweefseltoename, die in dezelfde gebieden werd waargenomen en die bij dit apen-experiment mogelijk wel secundair is aan de door de bestraling veroorzaakte coronaria-afwijkingen. In de coronariavertakkingen bevond zich op verschillende plaatsen een intimaverdikking, bestaande uit proliferatie van endotheelcellen en fibroblasten. De dikte van deze plaques, die hoogstens die van de media bedroeg, veroorzaakte een duidelijke vernauwing van het lumen (fig. 48, 49, 50 en 51). Het endotheel was overal intact en trombusvorming werd nergens gezien.

Daar de beschreven afwijkingen van de a. coronaria bij de controleapen ontbraken en evenmin in de literatuur worden genoemd – een feit waarop in hoofdstuk I reeds werd ingegaan – moeten deze opgevat worden als een stralingseffect. De groep als

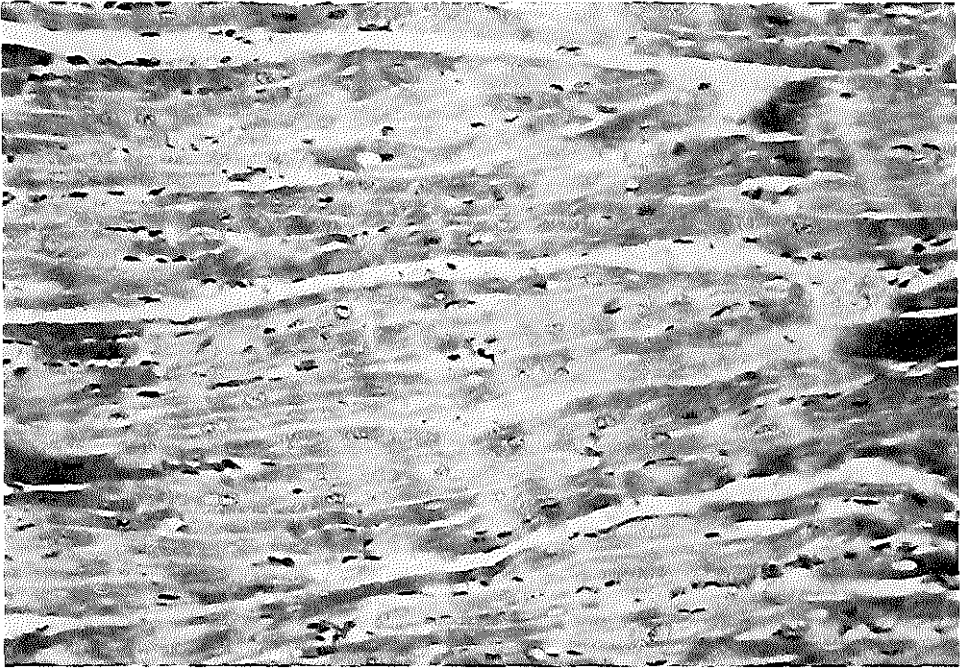


Fig. 43. Hartspier van een normale rhesusaap.
HE. kleuring; $\times 180$.



Fig. 44. Hartspier van een normale rhesusaap.
PTAH. kleuring; $\times 180$.



Fig. 45. A. coronaria van een normale rhesusaap.
HE. kleuring; $\times 85$.

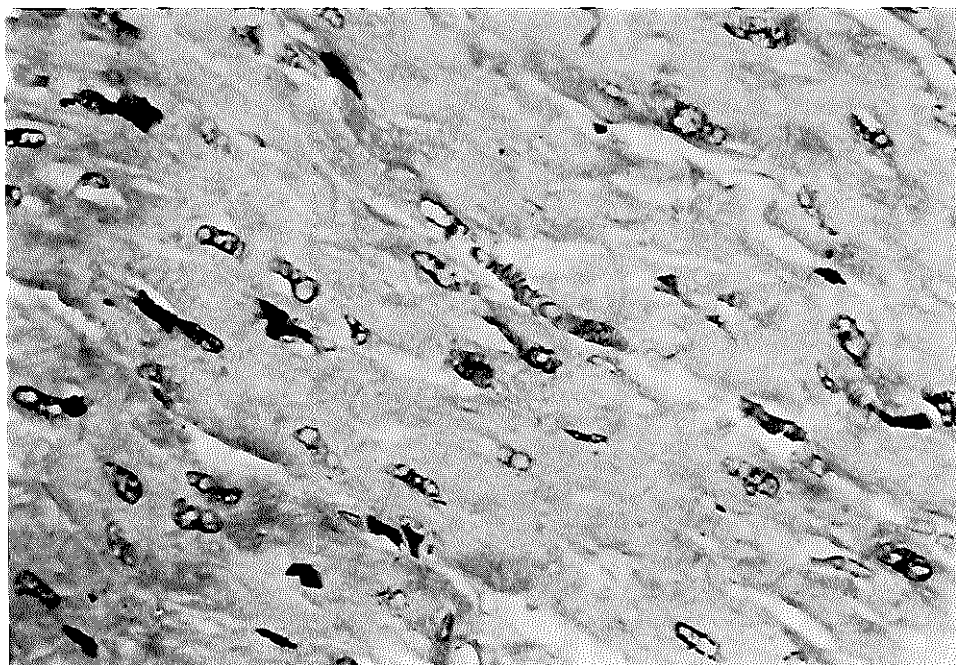


Fig. 46. Gezwollen en onregelmatig kleurbare spiercellen; polymorfie en pycnose der kernen, diffuse bindweefseltoename in het myocard.
Rhesusaap 1255; 4000 R;
HE. kleuring; $\times 500$.

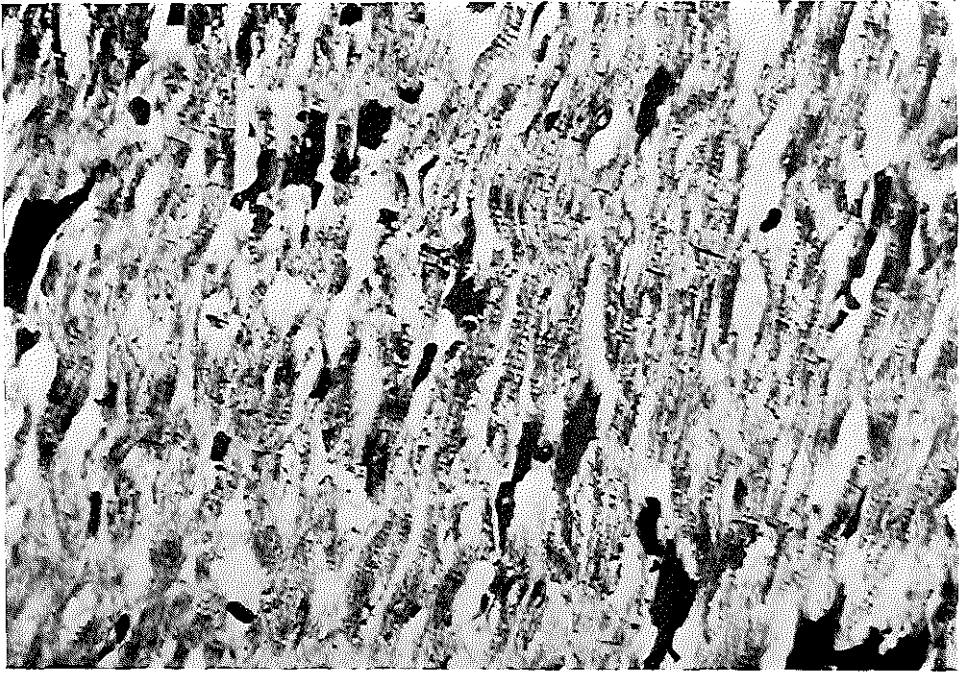


Fig. 47. PTAH. kleuring van preparaat fig. 46; $\times 500$.
De kleurbaarheid is onregelmatig; de dwarsstreping is overal zichtbaar.

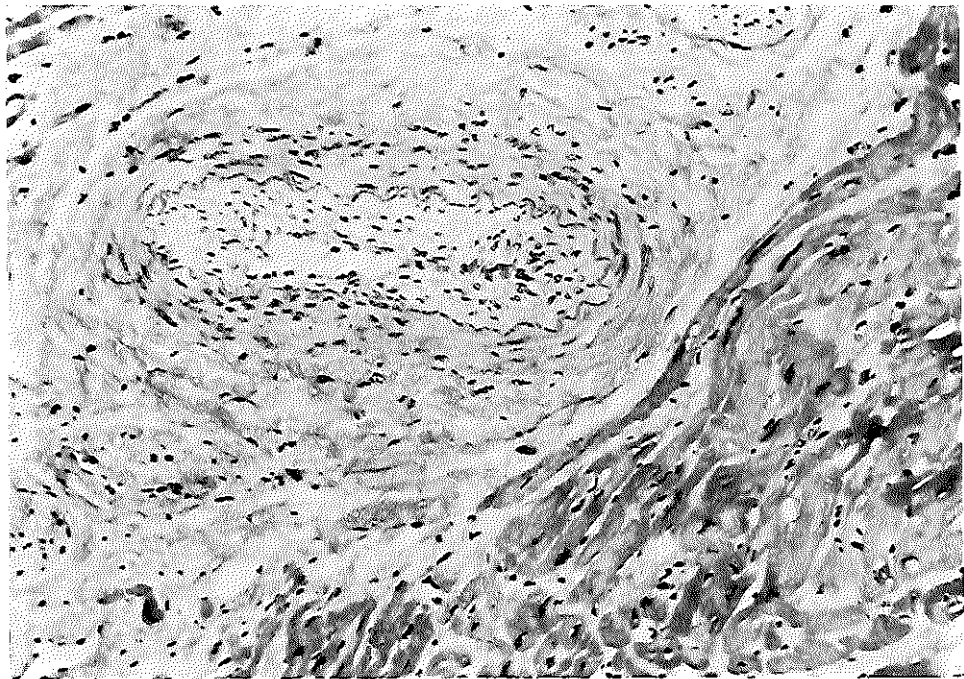


Fig. 48. Intimaverdikking van een tak van de a. coronaria met vernauwing van het lumen door proliferatie van endotheelcellen en fibroblasten.
Rhesusaap 1165; 4000 R;
HE. kleuring; $\times 145$.

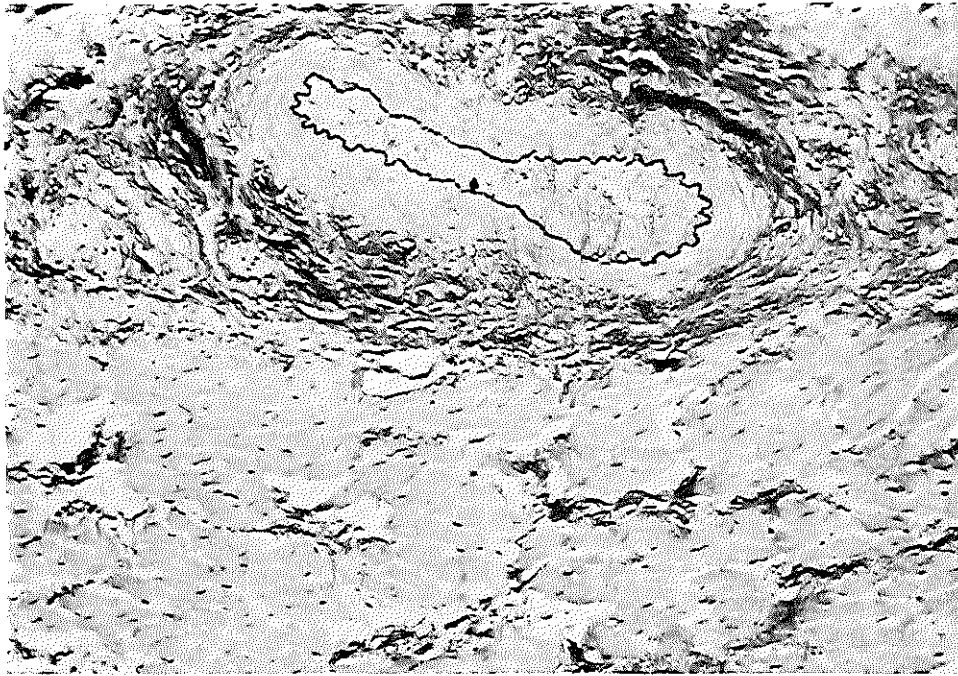


Fig. 49. Zelfde preparaat als fig. 48.
Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 145$.

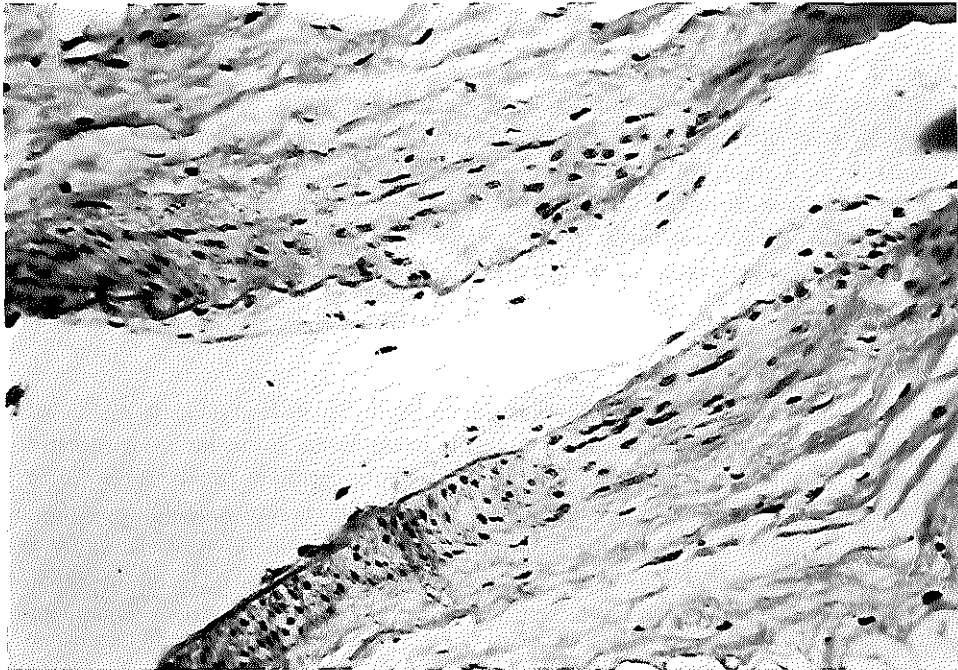


Fig. 50. Geringe mate van intimaverdikking van een tak van de a. coronaria.
Rhesusaap 1255; 4000 R.
HE. kleuring; $\times 230$.

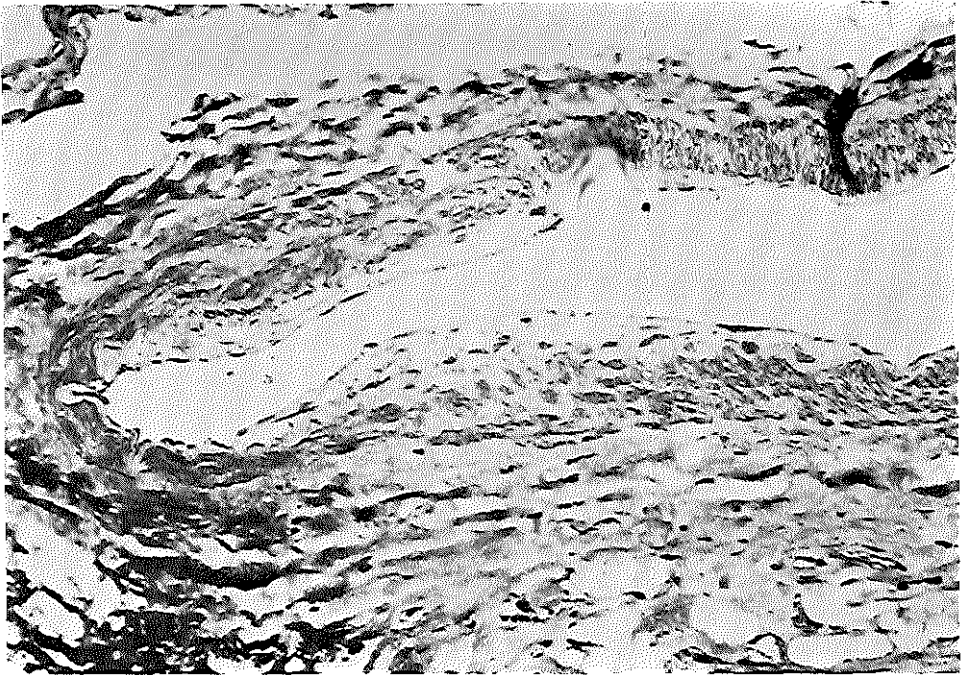


Fig. 51. Geringe intimaverdikking van de a. coronaria door proliferatie van endotheelcellen en fibroblasten.
Rhesusaap 1255; 4000 R.
Azankleuring volgens Heidenhain; $\times 230$.

zodanig is te klein om deze op te splitsen, ten einde een inzicht te krijgen in een mogelijke dosis-effectrelatie. Een interessante bevinding is echter, dat de lesies werden aangetroffen bij apen, die het langst na de bestraling hadden geleefd met uitzondering van aap 1260, die 16 weken na de laatste dosis werd geobduceerd en waarbij aan het hart geen afwijkingen werden gevonden. Hierin kan men een bevestiging zien van de opvatting, dat de lesies een zekere tijd nodig hebben om voldoende duidelijk tot ontwikkeling te komen.

De aorta

De afwijkingen aan de aorta van de rhesusapen bevonden zich in de intima, de media en de adventitia en werden bij alle bestraalde exemplaren gevonden, al kwamen zij niet steeds in combinatie voor, zoals blijkt uit de rubricering in tabel XVIII.

De intima toonde in het thoracale deel plaatselijk een geringe verdikking, waarvan de doorsnede steeds minder bedroeg dan die van de mediadikte en die bestond uit geprolifereerde endotheelcellen en fibroblasten (fig. 52, 53, 54 en 55). Het endotheel was overal intact. Weefselverval, kalkafzetting en trombusvorming werden nergens aangetroffen.

Tabel XVIII. De microscopische afwijkingen bij de bestraalde rhesusapen.

aap nr.	stralings- dosis	tijdstip obductie na laatste bestraling	HART		AORTA			LONGEN	
			myocard- afwijkingen	coronaria- afwijkingen	intima- verdikking	media- afwijkingen	afwijkingen vasa vasorum	stralings- lesies	infectie
1165	4000 R								
	in 4 weken	19 weken	+	+	-	+	+	+	+
1252	4800 R								
	in 5 weken	1 uur	-	-	+	-	-	-	-
1253	5800 R								
	in 6 weken	13 weken	+	+	+	+	-	+	+
1255	4000 R								
	in 4 weken	19 weken	+	+	-	+	+	+	+
1258	5800 R								
	in 6 weken	1 week	-	-	+	-	-	+	+
1260	4000 R								
	in 4 weken	16 weken	-	-	+	-	-	+	+

In de coupes van 3 aortae waren in de media de spiercellen gezwollen, waardoor de elastinevezels uit elkaar waren gedrongen, terwijl er op enkele plaatsen een fragmentatie van het elastineskelet bestond. De afwijkingen aan de spiervezels, die vaak gepaard gingen met polymorfie en pycnose van de kernen, bevonden zich voornamelijk aan de lumenzijde van de pars media. Plaatselijk was het spierversval soms zo sterk, dat optisch lege gebieden werden gezien (fig. 56 en 57).

Afwijkingen aan de vasa vasorum werden bij 2 rhesusapen aangetroffen. Het betrof in deze gevallen een vernauwing van het lumen door hyalineachtige verdikking van de intima (fig. 58). In deze gevallen lagen de vasa vasorum in een door fibrose en hyalinose veranderde adventitia. De kernpolymorfie van het omliggende bindweefsel wees op een bestralingseffect. Evenmin als bij de hartafwijkingen kan men op grond van het kleine aantal proefdieren tot een dosis-effectrelatie concluderen. De aard van de beelden en hun frequenties, die duidelijk overeenkomen met die welke bij de konijnen werden gezien, suggereren, dat men met stralingsschade te maken heeft.

De longen

In de longen werden bij de meeste bestraalde rhesusapen afwijkingen aangetroffen, waarvan de ernst bij de verschillende dieren sterk varieerde. In tabel XVIII is de verdeling in de groep schematisch weergegeven. Bij de controleapen kwamen geen longafwijkingen voor.

De lesies hadden in het algemeen eenzelfde aspect. In de paracardiale gebieden, die een dosis hadden ontvangen, die niet veel lager kan zijn geweest dan die van het hart en de aorta, trof men haarden aan, waar de alveolen met fibrine waren gevuld en waarin organisatie door bindweefsel was opgetreden. Plaatselijk bestond er atelectase

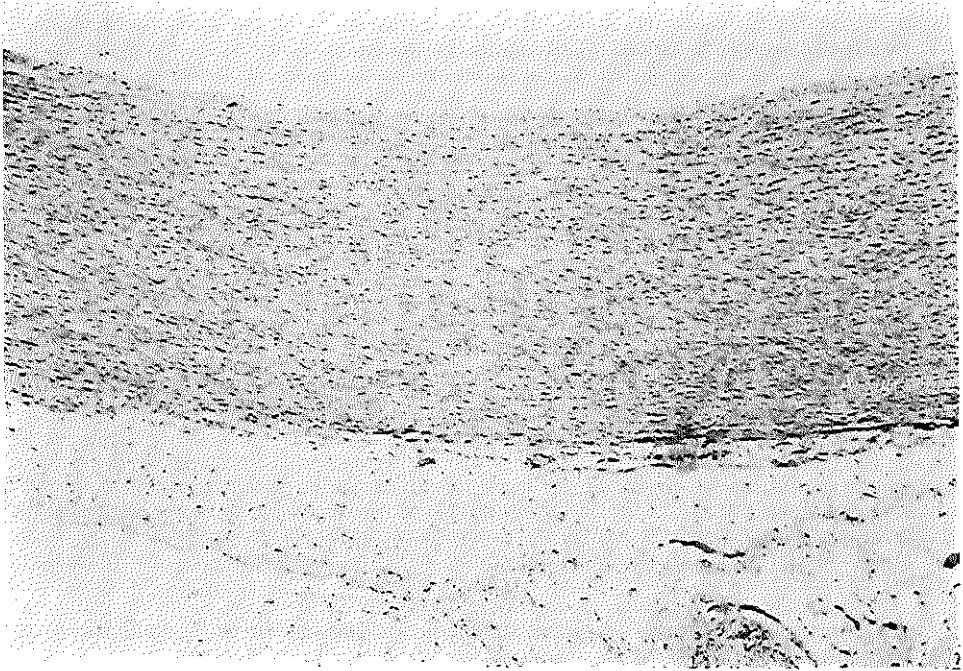


Fig. 52. Aorta van een normale rhesusaap.
HE. kleuring; $\times 40$.

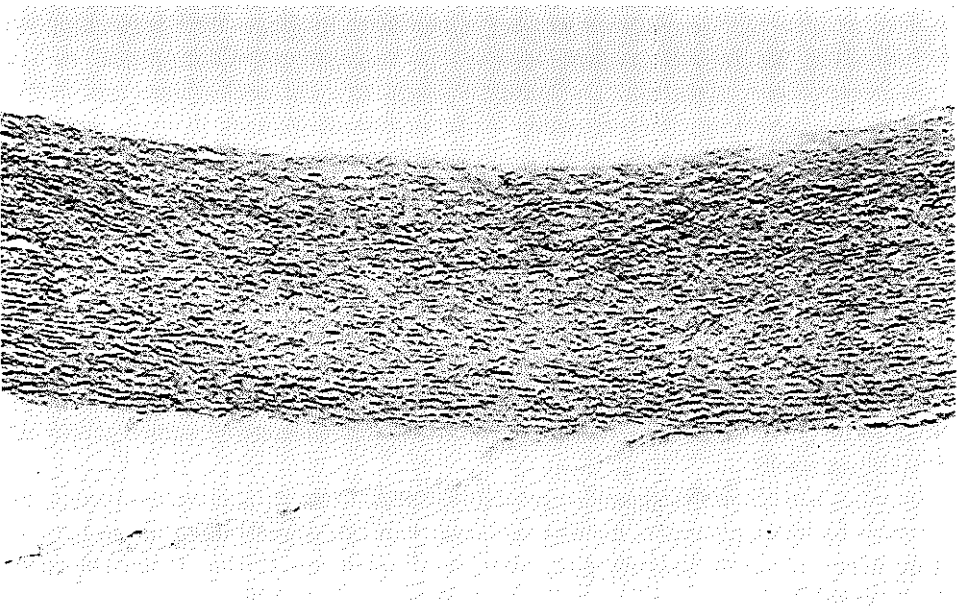


Fig. 53. Aorta van een normale rhesusaap.
Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 40$.

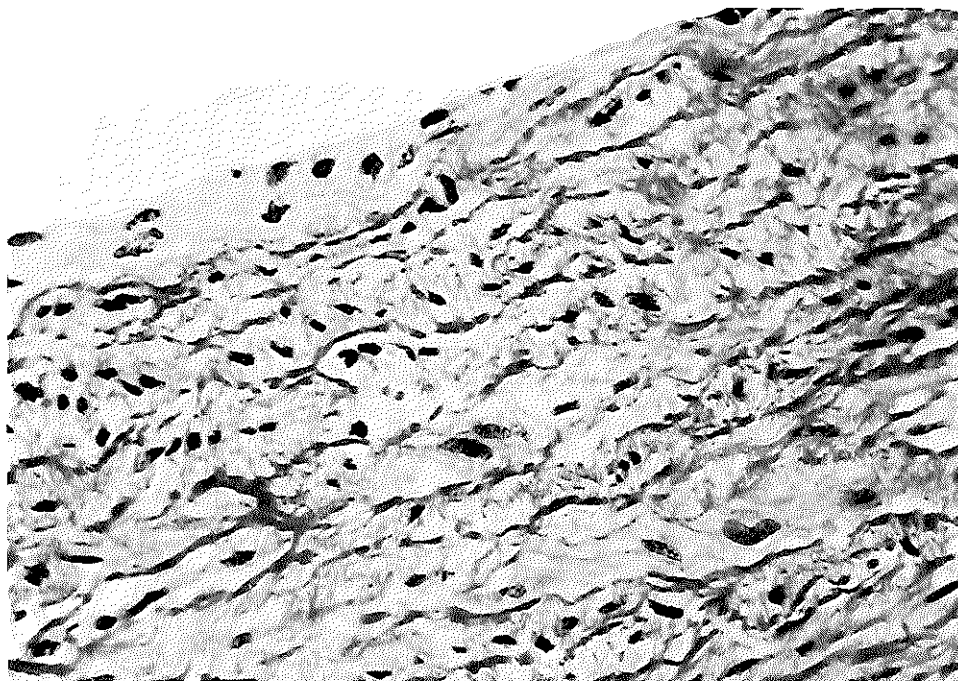


Fig. 54. Aorta met geringe verdikking van de intima; in de media een uit elkaar dringen van het elastineskelet door zwelling van de spiercellen; tevens opsplitsing en fragmentatie van de elastinevezels.

Rhesusaap 1253; 5800 R.

HE. kleuring; $\times 360$.

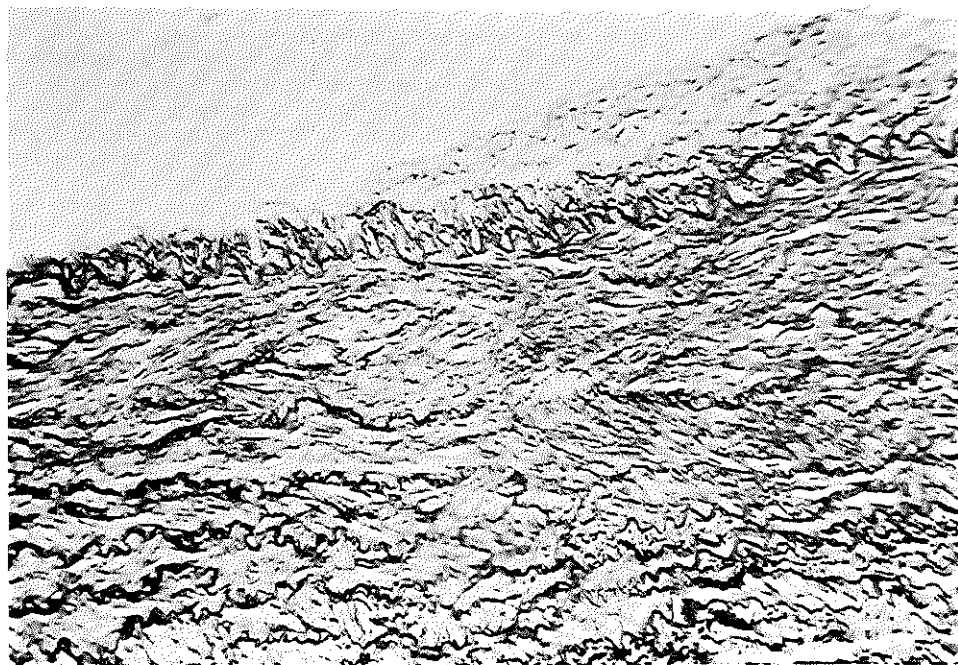


Fig. 55. Zelfde preparaat als fig. 54. Het elastineskelet is uit elkaar gedrongen, opgesplitst en gefragmenteerd.

Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 230$.

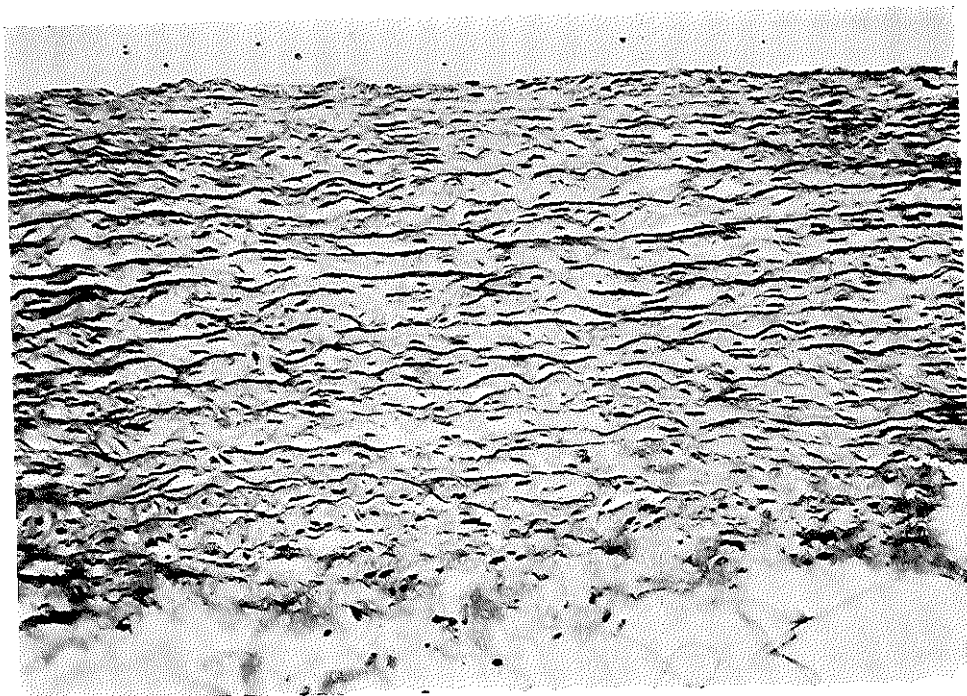


Fig. 56. Vervaging van spiercellen in de media; optisch lege gebieden; opsplitsen en verbrokkelen van de elastinevezels van de aorta.
Rhesusaap 1165; 4000 R.
HE. kleuring; $\times 145$.

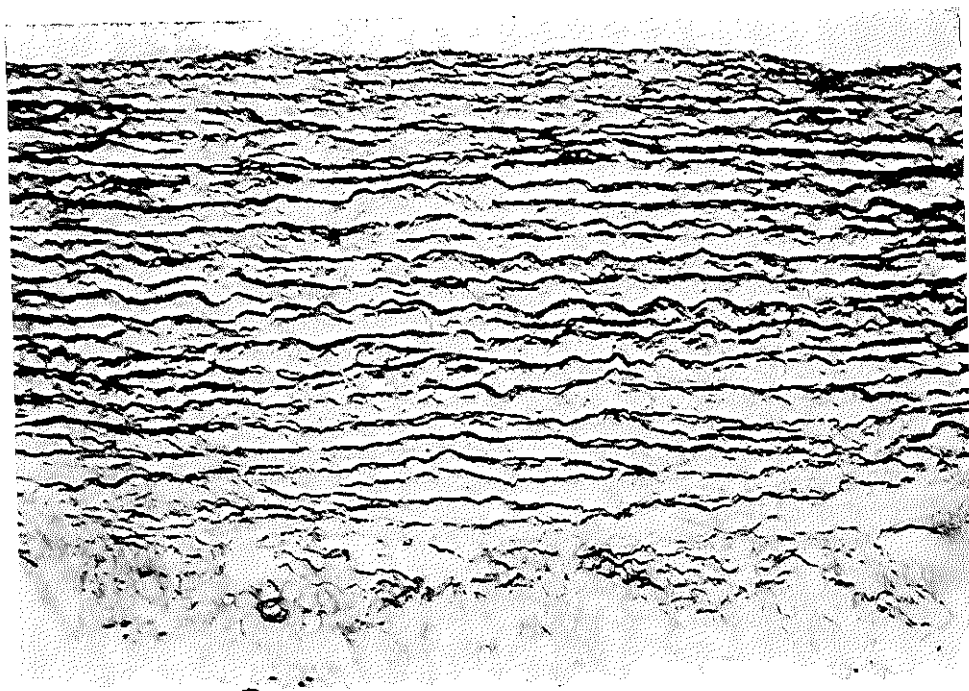


Fig. 57. Zelfde preparaat als fig. 55. Opsplitsing en fragmentatie van het elastineskelet.
Elastinekleuring volgens Van Gieson; $\times 145$.

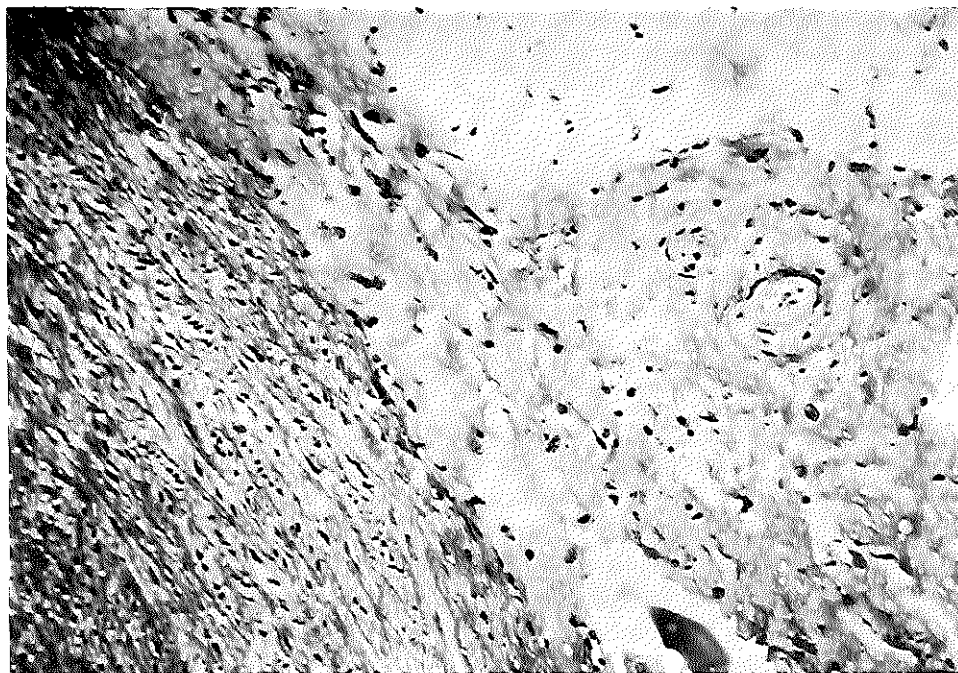


Fig. 58. Hyalinose met vernauwing van het lumen van de vasa vasorum van de aorta.
Rhesusaap 1165; 4000 R.
HE. kleuring; $\times 145$.

met verdikking van de septa door bindweefseltoename. Deze beelden zijn karakteristiek voor stralingsschade van de long. Voorts kwamen haarden voor waarin het exsudaat bestond uit grote aantallen segmentkernigen en macrofagen en uit fibrine, hetgeen wijst op een vers ontstekingsproces. Het bronchusepitheel was plaatselijk metaplastisch en deed soms sterk aan plaveiselcelpitheel denken.

In de kernen van enkele bronchusepitheelcellen werden eosinofiele insluitlichaampjes aangetroffen, die kenmerkend zijn voor een virusinfectie.

De beschreven longafwijkingen zijn karakteristiek voor een combinatie van stralingsschade en een adenovirusinfectie met secundaire bacteriële ontsteking. De uitslagen van de bacteriekweek, die bij de beschrijving van het verloop van het experiment reeds zijn genoemd, zijn hiermee in overeenstemming. In sommige coupes wordt daarnaast het beeld van een fibrineuze pleuritis waargenomen.

Bij 2 apen bevond zich in de a. pulmonalis een intimaverdikking door endotheel- en bindweefseltoename. De dikte van deze plaque was op enkele plaatsen bijna gelijk aan die van de media. Een uitgesproken vernauwing van het lumen bestond er echter niet.

In verschillende coupes werd een longmijt (*Pneumonyssus simicola*) aangetroffen, een bij de apen vaak voorkomende parasiet [124]. De hierdoor veroorzaakte beelden

waren goed te onderscheiden van bovengenoemde en werden in dit onderzoek verder buiten beschouwing gelaten.

De overige organen

Behalve uitgezette lymfvaten in de serosa van de dunne darm bij één aap, waarop in de paragraaf over het verloop van het experiment onder hoofdstuk II reeds is ingegaan, werden aan de inwendige organen geen afwijkingen aangetroffen. De radio-dermatitis, die bij alle apen in het bestralingsveld voorkwam, is voldoende bekend in de radiotherapie en zal daarom niet nader worden besproken.

Conclusies

Het beeld van de myocardegeneratie, dat bij beide groepen konijnen voorkwam bestond uit een onregelmatige kleurbaarheid van de hartspiercellen, een vervaging van de dwarsstreping en het uiteenvallen en verdwijnen van de celsubstantie uit de spiervezels: de myocytolyse. Tevens trof men kernpolymorfie en pycnose aan. Deze beelden werden bij de konijnenexperimenten gehouden voor bestralingseffecten. Bij de eerste konijnenproef kon een dosis-effectrelatie voor deze afwijkingen worden vastgesteld. Dit was uiteraard niet mogelijk voor experiment II, waar slechts één totale dosis was gegeven.

Bij de bestraalde rhesusapen werden bij 3 van de 6 gevallen myocardaafwijkingen aangetroffen, die verschillen van die van de konijnen. Met name was de vervaging van de dwarsstreping minder duidelijk dan bij de konijnen. Uit een aanvullende kleuring met fosforwolframaanzuur-haematoxyline bleek dat dit kenmerk bij geen der apen was verdwenen, zodat ten aanzien hiervan er geen sprake was van een stralingslesie. Wel kwamen plaatselijk dezelfde kernveranderingen voor als bij de konijnen en in combinatie met een diffuse bindweefseltoename, zodat op grond hiervan tot een stralingseffect kan worden geconcludeerd. Bij de apen was het aantal proeven te gering om de grootte van de dosis in de conclusie te betrekken.

De veranderingen van de a. coronaria en vertakkingen bij de konijnen konden niet uitsluitend worden teruggevoerd op een bestralingseffect. Wel was er bij enkele normaal gevoederde, bestraalde dieren een intimaverdikking, maar deze werd veel vaker aangetroffen bij zowel onbestraalde als bestraalde met cholesterol gevoederde groepen en was daar tevens veel uitgebreider. Hoogstens zou dus kunnen worden geconcludeerd dat het effect op de vaten door de bestraling wordt versterkt. Ten aanzien van de coronairafwijkingen, die bij de 3 rhesusapen worden aangetroffen blijkt de bestraling wel een belangrijke etiologische rol te spelen. Niet alleen omdat deze lesies bij de controleapen ontbraken, maar tevens omdat uit de eerder gerefereerde literatuur [87] blijkt, dat deze afwijkingen bij onbehandelde rhesusapen in een dergelijk uitgesproken vorm niet voorkomen.

De plaquevorming in de aorta is bij de proeven met de konijnen in de eerste plaats een cholesteroleffect. Deze lesies werden kennelijk versterkt indien tevens werd be-

straald. Een aanwijzing dat de bestraling dit effect ook teweeg kan brengen is het voorkomen hiervan bij enkele normaal gevoederde en bestraalde konijnen in experiment I. Merkwaardigerwijs kon bij de konijnen van proef II een bestralings-effect in het geheel niet worden aangetoond. Een geringe intimaverdikking kwam bij de bestraalde groep niet vaker voor dan bij de onbestraalde (in beide normaal gevoederde groepen slechts een enkele maal). Bij de onbestraalde cholesterolgroep was de plaquevorming reeds zo sterk, dat een eventuele bijdrage van de bestraling niet meer was vast te stellen. Bij de rhesusapen was er bij 4 van de 6 bestraalde exemplaren een geringe intimaverdikking die bij de controledieren ontbrak, hetgeen eveneens wijst op een relatie met de bestraling.

De afwijkingen van de spiercellen van de media en het elastineskelet hielden bij de konijnen en de apen duidelijk verband met de bestraling. Door de verdeling in de diverse groepen werd een dosis-effectrelatie gesuggereerd. Deze veranderingen van de media kwamen slechts bij uitzondering voor bij onbestraalde dieren.

Afwijkingen aan de vasa vasorum ontbraken bij alle konijnen, doch zij kwamen bij 2 bestraalde apen voor. In beide gevallen bij exemplaren, die tevens coronariaveranderingen hadden. De veranderingen van de vasa vasorum zijn evenals die van de a. coronaria bij de aap, ongetwijfeld op te vatten als een stralingslesie. Het is niet duidelijk waarom bij het konijn nooit een afwijking aan de vasa vasorum werd gevonden, hoewel veel exemplaren coronairafwijkingen hadden.

Aan de overige organen werden een aantal afwijkingen gevonden, die bij cholesterolvoeding overbekend zijn, zoals lipofagen in de milt en vetcellen in de lever. De leverafwijkingen bij enkele dieren van groep II, die imponeerden als een hepatitis, zijn mogelijk veroorzaakt door een leptospirose en minder waarschijnlijk een gevolg van de hoge dosis cholesterol. Voor dit onderzoek zijn zij irrelevant.

Opmerkelijk zijn echter de uitgebreide longafwijkingen bij de bestraalde apen, die bij de konijnen ontbraken. Mogelijk is door een algemene vermindering van de weerstand door de bestraling en de leucopenie en een lokale stralingsschade een latente virusinfectie manifest geworden en gecompliceerd door een bacteriële pneumonie. Het is bekend, dat bij apen intrapulmonaal virussen voorkomen en het is aannemelijk, dat onder bepaalde omstandigheden een virale aandoening door secundaire bacteriële infectie wordt gecompliceerd.

HOOFDSTUK V

Discussie

Om de vraag te beantwoorden of het doel van het onderzoek is bereikt, dienen de macroscopische en microscopische bevindingen van het hart en de aorta te worden geëvalueerd. Men zou op zijn minst vergelijkbare beelden verwachten van de lesies bij beide konijnenproeven, maar ook een redelijke gelijkenis van de afwijkingen bij het konijn met die bij de rhesusapen. Bij alle proeven was de bestralingstechniek vrijwel identiek. Niettemin zijn er behalve duidelijke overeenkomsten ook opvallende verschillen van de lesies.

Het hart

Het verdwijnen van de dwarsstreping in de hartspiercellen en de myocytolyse, die bij bestraalde konijnen voorkwamen, werden bij de apen niet aangetroffen. Daarom rees twijfel of de myocardaafwijkingen van de bestraalde konijnenharten als werkelijke stralingslesies moesten worden opgevat. Het was niet meer mogelijk aanvullende kleuringen bij het konijnehart te doen. Het structuurverlies van de spiervezels van het myocard was bij de eerste twee experimenten echter zo overtuigend, dat men hier wel moet aannemen, dat zij door bestraling zijn geïnduceerd. Het verschil tussen de bevindingen bij het konijn en de aap ten aanzien van dit kenmerk kan verklaard worden door een verschil in keuze van proefmodel, ofschoon er geen argumenten konden worden gevonden om het konijn als geschikt proefmodel af te wijzen.

Bij de mens zijn dergelijke lesies in de literatuur niet beschreven, zodat men af moet gaan op de hartbeschadigingen, die bij de aap konden worden opgewekt. Het zou beter geweest zijn, als het gehele onderzoek met apen was gedaan, omdat deze in de primatenorde het dichtst bij de mens staan en wij de klinische situatie zoveel mogelijk wilden nabootsen. Dit was echter om redenen van voornamelijk economische aard niet te verwezenlijken. Polymorfie en pycnose van celkernen zijn een reële stralingslesie bij beide diersoorten, waarvoor een duidelijke dosis-effectrelatie bestond bij de met cholesterol gevoederde konijnen uit experiment I. De normaal gevoederde groepen waren te klein om een verband met de dosis te kunnen vaststellen.

Naast de celkernafwijkingen in het myocard trof men bij de konijnen en bij de apen vrijwel altijd een diffuse of haardvormige toename van bindweefselcellen aan, die men kan opvatten als een reactie op de hartspierlesies. Beide afwijkingen immers lopen steeds parallel (tabel XIV en XVI) en de fibrose komt nooit voor zonder myocarda-veranderingen. Voorts is uit de pathologie bekend, dat bindweefselvermeerdering bijna altijd secundair aan weefselschade optreedt. Slechts bij enkele onbestraalde konijnen van groep II is het mogelijk, dat de myocardaafwijkingen verband houden

met de door cholesterol veroorzaakte vaatafwijkingen, omdat kernveranderingen hier ontbreken en de vernauwing van de coronariavertakkingen de enige lesie was. Daar deze vorm van myocardschade bij het konijn en de rhesusaap voorkomt, kan men verwachten, dat deze ook bij de mens na gefractioneerde bestraling optreedt.

Soedanofiele klepverdikking kwam in experiment I slechts voor bij combinatie van cholesterol-dieet en bestraling. Bij experiment II werd deze afwijking bij alle met cholesterol gevoederde konijnen aangetroffen, ongeacht de bestraling. Het verschillend patroon van soedanofiele klepverdikking bij experiment I en II kan verklaard worden door aan te nemen, dat de lesies bij de vrouwelijke konijnen steeds maximaal zijn en derhalve niet door bestraling kunnen verergeren. Bij de mannelijke konijnen, die een lager percentage cholesterol ontvingen was dit kennelijk nog wel mogelijk. Men zou hierin een bevestiging kunnen zien van de theorie van Brinkman c.s. [25, 26], dat door de bestraling er een grotere penetratiemogelijkheid ontstaat voor cholesterol-moleculen of macromoleculaire stofwisselingsprodukten daarvan in de door depolymerisatie van mucopolysacchariden veranderde vaatwand. Deze wijze van moleculaire infiltratie door de vaatwand geeft steun aan de imbibitietheorie, waarvoor Anitschkow [4] de basis legde en die een der etiologische mogelijkheden voor het ontstaan van atherosclerose is, zoals ook De Bruijn [27] op grond van electronen-microscopisch onderzoek heeft geopperd.

Bij 3 van de 6 bestraalde apen kwamen coronarialesies voor en wel bij 3 individuen die het langst na de bestraling in leven zijn gebleven. Er is blijkbaar enige tijd nodig om de afwijking tot ontwikkeling te laten komen. De afwijkingen van de a. coronaria zijn bij de konijnen zowel een cholesterol- als een stralingseffect (tabel XIV en XVI). Er is vooral bij experiment I een aanwijzing dat het effect van cholesterol door bestraling wordt versterkt. Deze waarnemingen dragen bij tot het wegnemen van de onzekerheid die in de literatuur bestaat of bij de mens de lesies het gevolg zijn van bestraling of van een reeds bestaand vaatlijden. Er is een aanwijzing, dat bij de mens de stralingsfactor van invloed is en dat deze een preëxistent vaatlijden versterkt. De versterking van het cholesteroleffect door bestraling geeft wat betreft de coronarialesies evenals bij de soedanofiele klepverdikking steun aan de imbibitietheorie, die door Brinkman c.s. voor bestraling van de vaatwand is ontwikkeld.

De aorta

De imbibitietheorie lijkt eveneens een verklaring te kunnen geven voor de soedanofilie van de aorta bij het konijnenexperiment I, waarbij de soedanofiele plaques statistisch significant worden versterkt door de bestraling (tabel IX). Door het sterke effect van het cholesterol in experiment II was een verdere bijdrage door de bestraling blijkbaar niet meer mogelijk.

De aneurysmatische aortaverwijdingen, die bij de konijnen van groep I werden aangetroffen, kunnen blijkens statistische toetsing als een stralingseffect worden opgevat. Het is echter merkwaardig, dat deze niet worden aangetroffen bij de konijnen van de tweede proef en evenmin bij de apen. Bij de tweede konijnenproef kwamen

wel porseleinachtige plekken voor, die wij houden voor beginstadia van aneurysmata en die in experiment I vaak naast de aortaverwijding voorkwamen. Waarschijnlijk is hier sprake van een verschil in gevoeligheid van de media tussen beide konijngroepen en zou bij een langere observatietijd ook in experiment II aneurysmatische aortaverwijding zijn opgetreden. Bij de aap werden noch porseleinen vlekken, noch aneurysmata aangetroffen. Wel waren er microscopisch identieke lesies van de pars media aortae bij apen en konijnen, die bestonden uit een vervaging of verdwijnen van de spiercellen, waardoor optisch lege gebieden waren ontstaan en een opsplitsing en fragmentatie van het elastineskelet. Het zijn blijkbaar typische stralingslesies, waarvan de ernst toeneemt met de dosis blijkens de verdeling in experiment I.

Fibrose en kalkafzetting in de plaques werden uitsluitend waargenomen bij experiment I. Het voorkomen van kalkafzetting bij een controledier van deze groep geeft een extra steun aan de opvatting, dat bij het gebruikte ras een versterkte neiging tot vaatverandering moet hebben bestaan, die door de bestraling morfologisch manifest wordt. Hiervoor pleit ook de kalkafzetting in de media bij bestraalde en onbestraalde konijnen van dezelfde groep.

Bij 2 bestraalde rhesusapen werd een vernauwing van het lumen van de vasa vasorum gevonden en een toename van bindweefsel in de adventitia met kernpolymorfie. Wij kunnen niet verklaren, waarom deze vorm van stralingsschade bij het konijn niet werd aangetroffen. De veranderingen in de pars media van de aorta zijn in de gevallen waar de vasa vasorum lesies vertoonden niet verschillend van die, waar deze kleine vaten een normaal aspect hadden, zodat men niet mag concluderen, dat de aortaveranderingen secundair zijn aan beschadiging van de vasa vasorum.

De vraag of de bestraling etiologisch van invloed is op het ontstaan van kraakbeen in de pars media van de aorta werd actueel door deze bevinding bij één mannelijk konijn, dat een dosis van 6000 R had ontvangen. Uit de literatuur (70, 112) blijkt, dat chondroïde metaplasie voorkomt als reactie op noxen en drukverhoging of trekverandering. Daarom lijkt het ons zeer goed mogelijk, dat de kraakbeenvorming secundair is aan de bestraling, die nogal ingrijpend is geweest, gezien de uitgebreide lesies die tevens in de aortawand werden aangetroffen.

Overige organen

Hoewel het doel van dit onderzoek de stralingslesies van het hart en de aorta waren, bleken de longafwijkingen en de leucopenie bij de aap zo sterk te zijn, dat een evaluatie ten aanzien van een invloed hiervan op de resultaten nodig is.

De longafwijkingen, die bij de aap de oorzaak waren, dat de voorgenomen stralingsdosis niet kon worden gegeven en die bij enkele apen verantwoordelijk waren voor een voortijdige dood, zijn een stralingseffect. Daar het gezien de bestralings-techniek onwaarschijnlijk is, dat bij de apen de longen meer bestraald zijn dan bij de konijnen, waarbij geen longafwijkingen voorkwamen, moet men aannemen, dat bij de rhesusaap er een relatief grote gevoeligheid van het longweefsel voor de bestraling bestaat. In hoeverre de gevonden virusinfectie bij enkele apen tot deze longcompli-

catie heeft bijgedragen is moeilijk te zeggen, doch allerminst uit te sluiten. Men zou de stralingsschade van de longen wellicht kunnen vermijden door een groter apesoort te nemen, waarbij het mogelijk zou zijn door een betere dosisopbouw met bijvoorbeeld een bewegingsbestraling meer longweefsel te sparen. Wij menen echter dat de voordelen hiervan niet opwegen tegen de technische bezwaren van een dergelijk onderzoek en dat bovendien de aard van de stralingslesies van het hart en de aorta niet essentieel zullen veranderen, gezien de resultaten bij de apen, die de voorgenomen dosis praktisch hadden ontvangen en die overeenkwamen met de afwijkingen, die bij de konijnen werden aangetroffen.

Hoewel het buiten het bestek van dit onderzoek valt in te gaan op de leucopenie, is deze bij de proeven op de rhesusapen zo indrukwekkend geweest, dat hieraan niet geheel kan worden voorbij gegaan. Over de etiologie heerst geen eenheid van mening. Als voornaamste oorzaak worden genoemd een directe schade van het haematopoëtisch apparaat, een rol die toxische stoffen direct of indirect via hypofyse en bijnieren spelen en als derde mechanisme migratie van witte bloedcellen uit het bloed naar de weefsels [49]. Men kent het verschijnsel van de leucopenie uit de kliniek en het is voorsommigen aanleiding om de bestraling te onderbreken. Uit de onderhavige proeven blijkt echter duidelijk, dat een spontaan herstel optreedt, waarschijnlijk omdat het beenmerg, dat niet in het bestraalde gebied ligt, in staat is om de leucopenie te compenseren. Hoe groot de verhouding bestraald-onbestraald beenmerg moet zijn om nog een spontaan herstel van het leucocytenaantal mogelijk te maken, is niet bekend. Het is niet waarschijnlijk, dat de secundaire longinfectie waaraan enkele apen stierven, invloed heeft gehad op het aantal leucocyten. Bij proefdier 1260, die na een initiële daling het meest uitgesproken leucocytose vertoonde, was de bacteriekweek uit pleura- en pericardvocht negatief, in tegenstelling tot de 2 andere, waarbij pathogene organismen werden aangetroffen, doch waarbij geen leucocytose werd gevonden.

Conclusies

De vraag of het niet praktischer was geweest het arbeidsintensieve en langdurige fractioneringsschema achterwege te laten en slechts één of enkele stralingsdoses te geven, moet ontkennend worden beantwoord. Bij de apen zou na één of enkele hoge doses een voldoende lange observatieperiode niet mogelijk zijn geweest door het optreden van longcomplicaties, die men in een dergelijke situatie eerder en ernstiger zou verwachten. Of de aard der lesies bij de apen anders is na de door ons gebruikte fractionering dan na een éénmalige bestraling is niet te zeggen, omdat over het stralingseffect van het hart en de aorta bij de aap te weinig bekend is. Bij de konijnenproeven zijn echter de door ons gevonden lesies anders dan die, welke in de literatuur na éénmalige bestraling zijn beschreven. Sommige auteurs [62] vinden na 5000 R geen verandering van het myocard van konijnen, anderen [66] beschrijven na niet geheel te herleiden doses vacuolaire- en hyalinedegeneratie van het myocard en een niet nader gespecificeerd polymorf, rondcellig infiltraat. Hoewel wij bij de bestraling als kleinste dosis 2000 R hebben gegeven en op grond van de gevonden dosis-

effectrelatie moeten aannemen, dat ook bij lagere doses lesies van het hart en de aorta optreden, achten wij deze zo gering, dat zij klinisch geen ernstige consequenties zullen hebben. Deze mening wordt gesteund door het onderzoek van Catterall [32], die pas na een gefractioneerde bestraling met een totale dosis van 2000 R of meer, afwijkingen op het e.c.g. van de mens vond.

De betekenis van de verschillende proeven voor de menselijke pathologie wordt mede bepaald door het aantal patiënten dat tijdens radiotherapeutische behandeling van intrathoracale processen hoge doses op het hart ontvangen. Hoewel een bestralingsplan zo wordt geconstrueerd, dat het „normale weefsel” zo veel mogelijk wordt gespaard, richt men zich over het algemeen meer op het sparen van de long, dan dat men rekening houdt met mogelijke beschadiging van het hart. De resultaten van dit onderzoek suggereren, dat men aan het sparen van het hart meer aandacht dient te schenken dan tot dusver het geval is. Mocht het gezien de ligging van de te bestralen aandoening niet mogelijk zijn het hart buiten het hoge dosisgebied te houden, dan is dit echter ons inziens geen reden het tumorproces een lagere dosis te geven, ten einde het hart minder te belasten. Er zijn bij onze experimenten, op één uitzondering bij het konijnenexperiment II na, geen proefdieren overleden aan een hartaandoening. Wij staan op het standpunt, dat het risico van een tumorrecidief door een inadequaat bestraald proces groter kan worden geacht, dan een infaust verloop ten gevolge van een door bestraling geïnduceerd hart-vaatlijden. Deze opvatting is tegengesteld aan die van Schneider [127], die overigens als enige ons bekende auteur stelling neemt ten aanzien van deze kwestie en aan een palliatieve bestraling de voorkeur geeft boven een curatieve behandeling, indien deze een risico van stralingslesie van het hart met zich meebrengt. Wat betreft de mogelijkheid van een verergering van een preëxistente atherosclerose door bestraling laten de resultaten van het konijnenexperiment I weinig twijfel bestaan over een toename van de vaatlesies door bestraling. Uit het konijnenexperiment II bleek, dat door bestraling een ernstige atherosclerose niet verder toeneemt, omdat deze reeds maximaal was bij de onbestraalde proefdieren en een eventueel effect van de bestraling hierbij niet meer tot uiting kon komen. Wel kunnen wij concluderen, dat de bestraling geen ernstige complicaties heeft veroorzaakt bij die gevallen, waar de atherosclerose zelfs in ernstige mate bestond. Bij de apen tenslotte, waarvan men mag aannemen, dat zij per se geen preëxistent vaatlijden hebben, is door de bestraling een lichte tot matige atherosclerose opgetreden.

In de kliniek zijn meestal geen gegevens over de toestand van de aorta vooraf bekend. Uit de resultaten van de proeven bij zowel konijnen als rhesusapen is gebleken, dat de hoge dosis straling het ontstaan van atherosclerotische afwijkingen bevordert, zodat men mag aannemen, dat deze ook bij de mens zullen optreden. Dit heeft als consequenties voor de radiotherapie, dat op grond van dezelfde argumenten als bij het hart naar voren zijn gebracht, de aorta buiten het hoge-dosisgebied moet worden gehouden, doch dat de te verwachten stralingsschade in de aorta geen reden kan zijn om een curatief opgezet bestralingsplan te vervangen door een palliatieve behandeling.

SAMENVATTING

De ontwikkeling van de radiotherapie gedurende de laatste decennia is de oorzaak, dat curatieve doses steeds meer worden gebruikt bij bestraling van maligne aandoeningen. Hierdoor is een inzicht in de stralingsschade van gezonde organen noodzakelijk geworden. Dit geldt in het bijzonder ten aanzien van het hart en de aorta, die soms een aanzienlijke stralingsdosis ontvangen, indien intrathoracaal gelegen processen met hoge doses worden bestraald.

Het hier beschreven onderzoek had tot doel na te gaan of er afwijkingen aan het hart en de aorta ontstaan na een gefractioneerde bestraling, zoals in de radiotherapie gebruikelijk is en in welke mate de ernst van de stralingseffecten afhankelijk is van de dosis.

Daar maligne aandoeningen vaak op oudere leeftijd ontstaan en men daarom kan verwachten, dat in een groot aantal gevallen er een zekere mate van atherosclerose van de a. coronaria en de aorta bestaat, was het wenselijk deze complicerende factor bij het onderzoek te betrekken.

In hoofdstuk I werd een beschouwing gewijd aan de beschikbare literatuur. Hierbij bleek dat er weinig of geen bruikbare gegevens bekend zijn over het effect van gefractioneerde bestraling op het hart en de aorta bij mens en proefdier, in tegenstelling tot vele publikaties die verschenen zijn over het atheroscleroseprobleem. Uit dit laatste bleek, dat het bij het konijn mogelijk is met cholesterolvoeding vaatafwijkingen op te wekken, die gelijkenis vertonen met de atherosclerose van de mens. Aan radiobiologische gegevens, zoals de L.D. 50/30 dagen en de overleving van cellen van verschillende diersoorten en tumoren na bestraling, konden geen argumenten worden ontleend om een ander proefdier boven het konijn te verkiezen. Wel ging enige voorkeur uit naar de aap als proefobject wegens zijn grote gelijkenis met de mens, doch gezien de uitgebreidheid van de proefopzet kon deze diersoort slechts in beperkte mate ter verificatie van de konijngegevens worden gebruikt. Over het gecombineerde effect van gefractioneerde bestraling en atherosclerose werden in de literatuur geen bruikbare aanknopingspunten gevonden.

De aspecten van de dosimetrie, de fractionering en de totale dosis en de wijze waarop de klinische situatie zoveel mogelijk werd benaderd, zijn in hoofdstuk I in het algemeen en in hoofdstuk II met betrekking tot de verschillende proefopstellingen beschreven. Tevens werd dieper op de door de cholesterol geïnduceerde atherosclerose ingegaan. Bij de bepaling van de duur van het experiment werd enerzijds rekening gehouden met de tijd, die nodig is om na cholesterolvoeding atherosclerotische veranderingen op te wekken en anderzijds met de periode, waarna men zogenaamde late stralingseffecten zou kunnen verwachten.

Een eerste experiment werd gedaan met 44 mannelijke konijnen, een kruising van Witte Wener en Alaska, beide afkomstig uit een gesloten kolonie. Er werden 2 groepen gevormd: normaal gevoederde en met 0,2 gew.% cholesterol gevoederde dieren. Deze hoofdgroepen werden in een aantal ondergroepen verdeeld, die op het hart en de aorta werden bestraald met respectievelijk 2000 R in 2 weken, 4000 R in 3½ week en 6000 R in 5 weken (250 kV, 15 mA, h.v.d. 2,2 mm Cu). Een vijfde niet bestraalde groep fungeerde als controle.

Voor een tweede experiment werden 40 vrouwelijke konijnen gebruikt, ras Hollander, die ook in 2 groepen werden opgesplitst, waarvan één normaal gevoerd werd en de andere groep 0,5 gew.% cholesterol in het voer ontving. Deze beide groepen werden onderverdeeld in groepen, die respectievelijk niet bestraald werden en die een totale stralingsdosis van 5000 R in 5 weken op hart en aorta kregen (250 kV, 15 mA, h.v.d. 2,2 mm Cu). Een aanvullend onderzoek werd gedaan met 6 rhesusapen, waarbij het echter niet mogelijk bleek de voorgenomen gefractioneerde bestraling tot een dosis van 6000 R in 6 weken te geven. Door complicaties van voornamelijk pulmonale aard moest de bestraling voortijdig worden afgebroken. De geapliceerde dosis op het hart en de aorta varieerde van 4000 R in 4 weken tot 5800 R in 6 weken (300 kV, 10 mA, h.v.d. 2,1 mm Cu).

In hoofdstuk II is ingegaan op het verloop van het serum-cholesterolgehalte en het lichaamsgewicht, die bij alle proefdieren zijn bepaald. Tevens werden in dit hoofdstuk behandeld de resultaten van de regelmatig verrichte bepalingen van het haemoglobinegehalte bij de konijnen en van het leucocytenaantal en de haematocriet bij de apen. Het serum-cholesterolgehalte toonde bij de normaal gevoederde konijnen van experiment II geen bijzondere schommelingen, met name niet bij de bestraalde dieren. Bij de met cholesterol gevoederde konijnen van het tweede experiment trad overeenkomstig de verwachting een geleidelijke stijging van de bloedspiegels op, zonder dat ook hier een effect van de bestraling aantoonbaar was. Het serum-cholesterolgehalte van alle proefdieren van experiment I echter daalde aanvankelijk. Deze daling werd toegeschreven aan de hoge beginspiegel, die voor jonge konijnen normaal is. Een invloed van de bestraling was hier evenmin aantoonbaar. De daling die bij de apen na het begin van de bestraling zeer duidelijk was, houdt verband met de verminderde voedselopname. De lichaamsgewichten van de bestraalde konijnen van experiment I en II toonden respectievelijk een daling en een stilstand tijdens de bestralingsperiode, hetgeen toegeschreven werd aan de tijdens die periode opgetreden anorexie.

Bij vrijwel alle bestraalde rhesusapen was het gewichtsverlies zeer sterk en er trad bij de dieren die het experiment voldoende lang overleefden, slechts een geleidelijk herstel op.

Het haemoglobinegehalte was bij de konijnen van beide experimenten zo constant, dat geen invloed van de bestraling, noch van het cholesteroldieet kon worden aangetoond. Bij de bestraalde rhesusapen trad er een sterke daling van het aantal leucocyten op, die na enkele weken spontaan herstelde.

Bij *macroscopisch* onderzoek (hoofdstuk III) werden bij de konijnen als *cholesterol-effect* gevonden:

het hart: soedanofiele klepverdikking;
de aorta: afzetting van soedanofiel materiaal aan de lumenzijde, het sterkst uitgesproken in de pars thoracalis.

Typische macroscopische *stralingslesies* zijn:

het hart: een slap en gedilateerd hart;
een verergering van soedanofiele klepverdikking bij de met cholesterol gevoederde exemplaren;
de aorta: aneurysmata, uitsluitend bij experiment I;
porseleinachtige plekken, die werden opgevat als een voorstadium van een aneurysma;
toename van de soedanofilie.

Aan het hart en de aorta van de rhesusapen kwamen geen macroscopisch zichtbare afwijkingen voor.

Bij het *microscopisch* onderzoek (hoofdstuk IV) werden bij het konijn als *cholesterol-effect* aangetroffen:

het hart: soedanofiele klepverdikking bij alle met cholesterol gevoederde groepen;
plaatselijke vernauwing van het lumen van de a. coronaria en vertakkingen door soedanofiele plaquevorming.
de aorta: afzetting van soedanofiel materiaal in de intima en de media uitsluitend bij de met cholesterol gevoederde groepen.

Als typische *stralingslesies* werden bij het konijn en de rhesusaap de volgende in principe identieke afwijkingen waargenomen:

het hart: polymorfie en pycnose van de spierkernen;
myocytolyse (alleen bij de konijnen);
diffuse en haardvormige fibrose;
vaatwandveranderingen van de a. coronaria en vertakkingen door toename van endotheelcellen en fibroblasten en hyalinose met plaatselijk een vernauwing van het lumen;
een peri- en epicarditis bleek een zelden voorkomende complicatie te zijn.
de aorta: intimaverdikking door toename van endotheelcellen en fibroblasten;
zwelling en vervaging van de spiercellen in de media;
verdringing en fragmentatie van het elastineskelet;
een vernauwing van enkele vasa vasorum met fibrose van de adventitia bij de rhesusaap;
bij één konijnenras (experiment I) kalkafzetting in de intima en de media en multipale aneurysmata.

Uit het onderzoek wordt in hoofdstuk V de voor de kliniek belangrijke conclusie getrokken, dat na een gefractioneerde bestraling van het hart en de aorta op een wijze zoals in de radiotherapie gebruikelijk is, bij een dosis van 2000 R en hoger, typische stralenveranderingen ontstaan.

Omdat in de praktijk de tumordosis meestal ver boven de 2000 R ligt, is het gezien de beschreven resultaten van groot belang een bestralingsplan zo te construeren, dat deze organen buiten het hoge-dosisgebied vallen. De ernst van de in dit onderzoek geregistreerde lesies is niet van dien aard, dat men een curatief opgezette behandeling zou moeten vervangen door een palliatieve, indien het onmogelijk is het hart en de aorta voldoende te sparen door de ligging van deze organen ten opzichte van het te bestralen proces.

SUMMARY

The development and further perfection of radiation sources and techniques during the past decades have led to an increasing application of curative doses instead of palliative regimens for the treatment of malignancies. In the case of intrathoracic tumors this trend implies the possibility of exposure of the heart and large vessels to doses of radiation, much higher than radiologists have been familiar with so far. In addition, a larger percentage of patients thus exposed survives for longer periods of time, so that the chances of late radiation lesions to become manifest are also gradually increasing. The present investigation was aimed at collecting information concerning the damage to the heart and aorta from fractionated high dose regimens similar to those used in modern radiotherapeutical practice. Attempts have been made to get more insight into the dose-effect relationships under those conditions.

Because intrathoracic radiotherapy is nearly exclusively employed in the case of malignancies at that location and since the latter occur predominantly in the group of relatively aged patients, it was decided that a study of the radiosensitivity of heart and aorta would be incomplete without taking into account the influence of pre-existing atherosclerotic disease.

A survey of the literature on the effects of high dose radiation on the heart and the aorta is presented in chapter I. Very little useful information on this subject could be collected and virtually no experimental or clinical data were available concerning the effects of fractionated radiation exposure. In contrast, the overwhelming amount of literature on both the clinical and experimental aspects of atherosclerosis in animals and man necessitated the limitation of our review to those main data which seemed directly relevant to our problem. It was concluded that the vascular lesions as occurring in rabbits following addition of cholesterol to the diet resemble the spontaneous atherosclerosis in man sufficiently close to use the cholesterol fed rabbit as an experimental model for the study of radiation effects.

Data on the radiosensitivity of different animal species or derived cellular systems did not reveal arguments in favour of any particular species of laboratory animals for the experiments in view. Because of the economical advantages, its suitable size for localized irradiation and its susceptibility to induction of atherosclerotic lesions the rabbit was selected as the main subject of our investigations. To allow a more rational extrapolation of the experimental findings to man, an additional limited series of experiments was performed with rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) as well. Various other experimental aspects such as dose measurements, the number and size of fractions, the over-all time of irradiation and the way in which the clinical situation can be approximated best, have been discussed in chapter I.

Chapter II contains an outline of the design of the experiments with rabbits and monkeys. Experiment nr. I was performed with 44 male rabbits, a cross breed of "Witte Wener" and "Alaska", both from a closed colony. The animals were divided into two groups: one was fed with normal pellets and the second group received an addition of 0.2% w/w of cholesterol to the diet. With regard to the radiation regimen, a subdivision of each group was made into animals that were exposed to localized irradiation of the heart and the aorta with doses of respectively 2000 R in 2 weeks, 4000 R in 3½ weeks and 6000 R in 5 weeks. A sixth group of non-irradiated rabbits served as controls. The X-radiation used had the following physical parameters: 250 kV, 15 mA, HVL 2.2 mm Cu.

Experiment nr. II involved 40 female rabbits of the local breed "Hollander". These animals were divided into two main groups, one receiving normal food and the second receiving a cholesterol addition of 0.5% w/w. Half of the animals of each group served as non-irradiated controls and the other half received 5000 R in the course of 5 weeks on the heart and the aorta.

The experiments with rhesus monkeys comprised 6 animals. It was intended to irradiate the heart and aorta region of these monkeys with a fractionated dose schedule up to a total dose of 6000 R in 6 weeks. However, in the course of the experiment complications, mainly of a pulmonary origin, developed, which prevented the completion of the irradiation course. The total doses administered varied therefore between 4000 R in 4 weeks and 5.800 R in 6 weeks. Chapter II also deals with the results of the body weight and serum-cholesterol determinations in the experimental animals. In general there was a break in the growth curve of the rabbits during the period of irradiation and in some animals even a loss of weight was recorded. This has been ascribed to a decreased food intake. Following the completion of the irradiation treatment the body weight began to recover and the growth rate eventually approached pre-irradiation values. Most of the rhesus monkeys responded to the irradiation with a severe loss of body weight which recovered more slowly than in the case of the rabbits. Serum-cholesterol levels reacted according to expectations in the rabbits of experiment II. The animals on the normal diet continued to show normal values and showed little effect of the irradiation. The animals receiving the cholesterol addition exhibited a rise of cholesterol levels; irradiation did not seem to influence these values. In contrast, in experiment nr. I a decrease in cholesterol levels of the blood was observed initially in both the "normal food" and the "cholesterol supplement" group. This decrease was tentatively ascribed to the age of these rabbits. Young rabbits may show abnormally high blood cholesterol values, which decrease spontaneously with time, so that it seemed likely that the rabbits in experiment nr. I have been younger than those of experiment nr. II and were thus still in the age period of decreasing blood cholesterol values. Again in experiment nr. I the cholesterol levels were not significantly affected by the irradiation. In the irradiated monkeys blood cholesterol levels decreased sharply following the start of the irradiation treatment, which is possibly related to the decreased food

intake. Hemoglobin levels in the rabbits as in the monkeys were not influenced by cholesterol feeding nor by irradiation. All the irradiated monkeys developed a transient leukopenia.

In chapter III the nature and incidence of *macroscopical* lesions observed in hearts and aortas have been reported and their distribution over the various experimental groups has been analysed in order to arrive at a conclusion as to which lesions are directly related to the irradiation. In the rabbits the following abnormalities were encountered:

the heart: a flabby dilation, which seems to be caused by irradiation, sudanophilic valve thickening in the animals fed the cholesterol diet. This lesion is aggravated by irradiation.

the aorta: aneurisms (only in experiment I) and porcelainlike plaques, interpreted as a first stage of an aneurism (in both experiments). These lesions are interpreted as radiation damage.

Concentration of sudanophilic material in the wall of the aorta bordering on the lumen were found in the cholesterol fed groups. These abnormalities were intensified by irradiation.

No macroscopic lesions were demonstrated in the heart and the aorta of the rhesus monkeys.

Chapter IV contains an account of the *microscopic* findings in the tissues of the experimental animals. Some were found to be caused by cholesterol feeding. In the hearts of all cholesterol fed groups of animals a sudanophilic thickening of the valves was seen. In addition localized narrowing of the lumen of the coronary vessels and its branches occurred in these groups. In the aorta cholesterol feeding induced the deposition of sudanophilic material in the medial and the intimal layers. In both the rabbits and the rhesus monkeys the following lesions were identified as being characteristically induced by the irradiation of the heart and aorta:

the heart: polymorphia and pyknosis of the nuclei of the muscle fibers;

myocytolysis (only in the rabbits);

diffuse and local fibrosis;

vascular lesions of the coronary artery by proliferation of endothelium and fibroblasts and hyaline degeneration with local narrowing of the lumen;

a peri-epicarditis is a rare complication.

the aorta: thickening of the intimal layer by proliferation of endothelium and fibroblasts;

swelling and fading of muscle cells in the media;

dispersion and fragmentation of the lamellae of elastin tissue;

narrowing of some of the vasa vasorum and fibrosis of the adventitial layer in the rhesus monkey;

in one rabbit strain (experiment I) localized calcifications occurred in the inner and medial part of the wall and multiple aneurisms were found.

The implications of these results for clinical radiological practice have been discussed in chapter V. It is concluded that characteristic radiation changes in the heart and aorta may be expected to occur following fractionated exposure to a total dose of 2000 R and higher. Since the doses employed in radiotherapy are usually in excess of this threshold dose, the results seem to stress the necessity of planning the irradiation set-up in such a way that the heart and the aorta are kept out of the high dose region. The possible effects of irradiation on cardiac function, associated with these morphological changes are discussed and although the changes may be life-shortening, they are not expected to be life-threatening at short intervals after irradiation. Therefor the severity of the lesions encountered in these experiments does not seem to justify a change from a curative radiotherapy regimen to a palliative one in those cases where heart and aorta cannot possibly be kept out of the high dose region.

LITERATUUR

1. AHRENS, Jr. E. H., J. HIRSCH, W. INSULL Jr., W. STOFFEL, M. L. PETERSON, J. W. FARQUHAR, T. MILLER, H. J. THOMASSON (1959) The effect on human serumlipids of a dietary fat, highly unsaturated but poor in essential fatty acids. *Lancet* I, 115.
2. AHRENS, Jr. E. H., J. HIRSCH, W. INSULL Jr., TH. T. TSALTAS, R. BLOMSTRAND, M. L. PETERSON (1957) Dietary control of serumlipids in relation to atherosclerosis. *J.A.M.A.*, 164, 1905.
3. AMROMIN, G. D., H. L. GILDENHORN, R. D. SOLOMON, B. B. NADKARI en M. L. JACOBS (1964) The synergism of X-irradiation and cholesterol-fat feeding on the development of coronary artery lesions. *J. Atheroscler. Res.* 4, 325.
4. ANITSCHKOW, N. (1933) Experimental arteriosclerosis in animals. In: *Arteriosclerosis, a survey of the problem*, 271. E. Cowdry, New York.
5. ASSCHER, A. W., C. WILSON en SALLY G. ANSON (1961) Sensitisation of bloodvessels to hypertensive damage by X-radiation. *Lancet* I, 580.
6. BACQ, Z. M. en P. ALEXANDER (1955) *Fundamentals of Radiobiology*. Butterworths Scientific Publications, London.
7. BAILEY, J. M. en J. BUTLER (1967) Intensification of experimental atherosclerosis by semi-starvation diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Ned.*, 124, 1119.
8. BAILEY's Textbook of histology, revised by Smith, P. E. en W. M. Copenhaver (1944) The Williams en Wilkins Company, Baltimore.
9. BARENDSEN, G. W. (1965) Experimentele gegevens over de overleving van cellen na eenmalige en gefractioneerde bestraling en de betekenis ervan voor de radiotherapie van tumoren. *J. Belge de Radiologie* 48, 407.
10. BARENDSEN, G. W. (1968) *Current Topics in Radiation Research*, North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
11. BELLION, B. en G. NATTERO (1960) Cardial changes during Betatron radiotherapy for bronchopulmonary and mediastinal tumours. *Minerva Med.*, Torino, 51, 59.
12. BENNETT, L. R., S. M. CHASTAIN, J. S. FLINT e.a. (1953) Late effects of Roentgen irradiation (studies on rats irradiated under anoxic anoxia) *Radiology* 61, 411.
13. BERDJIS, C. C. (1960) Late effects on the arteries of the adult rat. *Strahlentherapie* 112, 595.
14. BLUMENFELD, H. en S. F. THOMAS (1945) Chronic massive pericardial effusion, following roentgentherapy for carcinoma of the breast. *Radiology* 44, 335.
15. BOER, DE W. G. R. M. (1963) Experimentele en therapeutische röntgenbestraling als oorzaak van arteriële en cardiale beschadiging. *Academisch Proefschrift*, Groningen.
16. BORMAN, M. C. (1927) Histological changes in the sino-auricular node and adjacent tissues of the dog following radion emanation *Am. J. Roentg.* 18, 111.
17. BOYMAN, TH. (1963) De pathologie van de coronaria-afsluiting. *Ned. T. Geneesk.* 107, 1336.
18. BORTZ, W. M., N. P. LARSEN en W. H. CRYN (1958) Fatty acid supplements to the cholesterol-fed rabbit. *Arch. Path.* 66, 218.
19. BÖTTCHER, C. J. F., E. BOELSMA-v. HOUTE e.a. (1960) Lipid and fatty-acid composition of coronary and cerebral arteries at different stages of atherosclerosis. *Lancet* II, 1162.
20. BÖTTCHER, C. J. F. en C. M. VAN GENT (1961) Changes in composition of phospholipids and of phospholipid fatty acids associated with atherosclerosis in the human aortic wall. *J. Atheroscl. Res.*, 1, 36.
21. BÖTTCHER, C. J. F., F. P. WOODFORD e.a. (1960) Fatty-acid distribution in lipids of the aortic wall. *Lancet* I, 1378.
22. BÖTTCHER, C. J. F., C. C. TER HAAR ROMENY-WACHTER, E. BOELSMA-v. HOUTE, C. M. VAN GENT (1958) Analyses of lipids of the arterial wall. *Lancet* II, 1207.
23. BOYD, W. (1947) *A Text-book of Pathology*. Henry Kimpton, London.
24. BRAGDON, J. H. (1952) Spontaneous Atherosclerosis in the rabbit. *Circulation* 5, 641.

25. BRINKMAN, R. (1960) Réactions immédiates et précoces aux Rayons X. *J. Belge de Radiologie*, 43.
26. BRINKMAN, R., H. B. LAMBERTS, J. K. BOTTEMA (1960) Early effects of X-irradiation on the permeability of excised and living aortawall. *Proceedings Kon. Ned. Akademie v. Wetenschappen* 64, 4.
27. DE BRUIJN, W. C. (1969) De pathogese van experimenteel verwekte atheromatose bij konijnen. *Acad. Proefschrift, Leiden*.
28. VAN BUCHEM, F. S. P. (1962) Atherosclerose en Voeding. *Ned. T. Geneesk.* 106, 2209.
29. VAN BUCHEM, F. S. P., J. J. SPEELMAN, A. A. IDEMA, A. J. VALKEMA, H. J. THOMASSON (1961) The influence of various dietary fats on the blood cholesterol content. *Proceedings Kon. Ned. Akademie van Wetenschappen* 64, 5.
30. BURCHELL, H. B., A. R. BARNES, F. C. MANN (1939) The electrographic picture of experimental localized pericarditis. *Am. Heart J.* 18, 133.
31. CADE, S. (1940) Malignant disease and its treatment by radiation. *Williams and Wilkins Co. Baltimore*.
32. CATTERALL, M. (1960) The effect of radiation upon the heart. *Brit. J. of Rad.* 33, 159.
33. COHRS, P., R. JAFFÉ en H. MEESSEN (1958) *Pathologie der Laboratoriumstiere*. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
34. Comparative atherosclerosis (1965) Hoeber Medical Division, Harper and Row, Publishers, New York, Evanston, New York.
35. CONSTANTINIDES, P., N. GUTMANN-AUERSPERG en D. HOSPES (1958) Acceleration of intimal atherogenesis through prior medial injury. *Arch. Path.* 66, 247.
36. CONSTANTINIDES, P., J. BOOTH en G. CARLSON (1960) Production of advanced cholesterol atherosclerosis in the rabbit. *Arch. Path.* 70, 712.
37. CONSTANTINIDES, P. (1961) Production of experimental atherosclerosis in animals. *J. Atheroscl. Res.* 1, 374.
38. CONSTANTINIDES, P., en P. SAUNDERS (1958) Effects of sulfated alginic acid (S.A.A.) on preestablished rabbit atherosclerosis. *Arch. Path.* 65, 360.
39. COUTARD, H. en J. LAVEDAN (1922) Troubles de Cardio-Vasculaires déterminés par les rayons X. *C.R.Soc.Biol., Paris* 86, 666.
40. COX, G. C., C. B. TAYLOR, L. G. COX en M. COUNTS (1958) Atherosclerosis in rhesus-monkeys. *Arch. Path.*, 66, 32.
41. CRAWFORD, T. (1961) Morphological aspects in the pathogenesis of atherosclerosis. *J. Atheroscl. Res.*, 1, 3.
42. DESJARDINS, A. U. (1932) Action of Roentgen rays and radium on the heart and lungs (experimental data and clinical radiotherapy). *Am. J. Roentg.* 27, 153, 305, 479.
43. Diet and cholesterolemia in the rat. (1960) *Nutrition Reviews*, 18, 1.
44. DOBROVALSKAYA-ZAVADSKAYA, N. (1924) Action des foyers radioactifs sur les vaisseaux sanguins. *Lyon Chir.* 21, 397.
45. DOMAGH, G. (1928) Gewebsveränderungen nach Röntgenbestrahlungen. *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde*, 333.
46. DUGUID, J. B. and W. B. ROBERTSON (1957) Mechanical factors in atherosclerosis. *Lancet* I, 1205.
47. EGGERS, P. (1941) Rhythmusstörungen des Herzens durch Röntgenbestrahlung. *Münch. Med. Wochenschr.* 88, 242.
48. ELKIND, M. M. (1960) Cellular aspects of tumor therapy. *Radiology* 74, 529.
49. ELLINGER, F. (1957) *Medical Radiation Biology*. Thomas, Publisher, Springfield-Ill. U.S.A.
50. ENGELMANN (1934) Klinik und Pathologie der Röntgenschädigung des Herzens. *Verh. Dsch. Röntg. Ges.*, 27, 40.
51. FAJARDO, L. F., J. A. STEWART en K. E. COHR (1968) Morphology of radiation-induced heart disease. *Arch. Path.* 86, 512.
52. FAUST, H. (1932) Nachgewiesene schwere Schädigung des Perikards nach Röntgentiefen-Behandlung der Präkardialgegend. *Strahlentherapie*, 43, 749.
53. FLETCHER, G. (1966) *Textbook of radiotherapy*. Lea and Febiger, Philadelphia.
54. FREID, J. R. en J. R. GOLDBERG (1940) Post-irradiation changes in the lungs and thorax. *Am. J. Roentg.* 143, 877.

55. GABRIEL, (1924) Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die Gefäße. Fortschr. a.d. Geb. d. Röntgenstrahlen, 32, Kongressheft, 158.
56. GENDREAU, J. E. (1931) Far-reaching effects of gamma rays and short X-rays upon the human heart. *Annals of Surg.* 43, 1.
57. GEIJN, v. D. J., (1965) The computation of two and three-dimensional dose distribution in Cobalt 60 teletherapy. *Brit. J. Radiol.* 38, 369.
58. GEIJN, v. D. J., (1967) De praktijk van computers in de radiotherapie. *Ned. T. Geneesk.*, 111, 1900.
59. GEIJN, v. D. J., en G. KOK (1966) De computer in de radiotherapie. *Ned. T. Geneesk.*, 110, 1692.
60. GOLD, H. (1961) Production of arteriosclerosis in the rat. Effect of X-ray and high-fat diet. *Arch. Path.* 71, 268.
61. GOLD, H. (1962) Atherosclerosis in the rat. Effect of X-ray and a high fat diet. *Proc. Exp. Biol. and Med.*, 3, 593.
62. GORDON, B., G. F. STRONG en E. S. EMERY (1924) Effect of direct radiation over the precordium on the heartsize, heartmechanism and myocardium of rabbits. *Am. J. Roentg.* 11, 328.
63. GORTER, E. en W. C. de GRAAFF (1955) Klinische diagnostiek deel I. H. E. Stenfert Kroese N.V., Leiden.
64. GOTTESMANN, J. en A. J. BENDICK (1926) Pneumopericardium from radium necrosis. *Am. J. Med. Sc.* 171, 715.
65. GRÁL, TH. en J. GRÁL (1963) E.K.G.-Veränderungen nach Röntgenbestrahlung der Herzgegend. *Strahlentherapie* 120, 383.
66. HARTMAN, F. W., A. BOLLIGER, H. DOUB en F. J. SMITH (1927) Heartlesions, produced by the deep X-ray (experimental and clinical study). *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 41, 36.
67. HARTROFT, W. S. en W. A. THOMAS (1959) Pathological lesions related to disturbances of fat and cholesterol metabolism in man. *J.A.M.A.* 164, 1899.
68. HOFFMEYER, J. (1944) The cholesterol content in rabbit serum. *Acta Physiologica Scandinavica* 7, 313.
69. HOLLANDER, C. F. (1968) Proefdieren voor vergelijkend atherosclerose onderzoek. *T.N.O. Nieuws* 23, 449.
70. HUEPER, W. C. (1945) Ossified cartilage with myeloid fat marrow in the aortic ring of a rabbit. *Arch. Path.* 39, 89.
71. JONES, A en J. WEDGWOOD (1960) Effects of radiation on the heart. *Brit. J. Radiol.* 33, 138.
72. KAPLAN, H. S. (1962) The radical radiotherapy of regionally localized Hodgkin's disease. *Radiology*, 78, 553.
73. KASAI, T., O. J. POLLAK (1964) Smooth muscle cells in aortic cultures of untreated and cholesterol-fed rabbits. *Z.f. Zellforschung u. Mikr. Anatomie*, 62, 743.
74. KASAI, T., O. J. POLLAK (1964) Endothelial cells and macrophages in aortic cultures of untreated and cholesterol-fed rabbits. *Z.f. Zellforschung u. Mikr. Anatomie*, 62, 753.
75. KATZ, L. N. (1952) Experimental atherosclerosis. *Circulation* 5, 101.
76. KESSLER, G., M. B. HERMEL, J. GERSHON COHEN (1958) Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity after whole body irradiation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98, 201.
77. KESTEN, H. D. (1935) Early incidence of spontaneous degeneration in the aorta of the rabbit. *Arch. Path.* 20, 1.
78. KEYS, ANCEL. (1952) Human atherosclerosis. *Circulation* 5, 115.
79. KIRKPATRICK, J. B. (1967) Pathogenesis of foamcell lesions in irradiated arteries. *Amer. J. Pathol.* 50, 291.
80. KOK, G. (1965) Enkele aspecten van de gefractioneerde bestraling in de kliniek. *J. Belge de Radiologie*, 48, 453.
81. Kok, G. (1968) persoonlijke mededeling.
82. Kok, G. (1964) Veertiende jaarboek van kankeronderzoek en kankerbestrijding in Nederland. J. H. de Bussy, Amsterdam.
83. KOUDSTAAL, J., W. G. R. M. DE BOER (1963) Onverwachte complicaties na bestraling voor een intrathoracal proces. *Ned. T. v. Geneesk.* 107, 674.

84. KUNKLER, P. B., R. F. FARR, L. W. LUXTON (1952) The limit of renal tolerance to X-rays. *Brit. J. Radiol.* 25, 190.
85. LAMBERTS, H. B. (1958) Chemische bescherming tegen beschadigende bestraling onderzocht aan enkele biochemische reacties met zeer korte latentie. *Acad. Proefschrift*, Groningen.
86. LAMBERTS, H. B. en W. G. R. M. DE BOER (1963) Contributions to the study of immediate and early X-ray reactions with regard to chemoprotection. *Int. J. Rad. Biol.* 6, 343.
87. LAPIN, B. A., L. A. YAKOVLEVA (1963) Comparative pathology in monkeys. Springfield Ill. Thomas.
88. LAVEDAN, J. (1925) Les réactions cardio-vasculaires provoquées par les rayons X. *Paris médical* 55, 137.
89. LEACH, J. E., K. SUGIURA (1941) The effect of high voltage roentgen rays on the heart of adult rats. *Am. J. Roentg.* 45, 414.
90. LEACH, J. E., K. SUGIURA (1942) Late effect of high voltage roentgen rays on the heart of adult rats. *Am. J. Roentg.* 48, 81.
91. LEACH, J. E. (1943) Effect of roentgentherapy on the heart; a clinical study. *Arch. Int. Med.* 72, 715.
92. LEUCUTIA, T. (1944) Effects of roentgentherapy on the heart. *Am. J. Roentg.* 51, 379.
93. LEVIS, A. G. (1963) X-Radiation sensitivity of nitrogen mustard resistant mammalian cells in vitro. *Nature* 198, 498.
94. LEVY, R., R. GOLDEN (1927) Some effects of roentgenirradiation on the heart in rheumatic carditis. *Am. J. Roentg.* 18, 103.
95. LILLIE, R. D. (1954) Histiopathologic technic and practical histochemistry. The Blakiston Company, Toronto.
96. LINDSAY, S., C. W. NICHOLS, I. J. CHAIKOFF (1955) Aortic lesions induced in the bird by diethylstilbestrol injections and cholesterol feeding. *Arch. Path.* 173, 184.
97. LOPES DE FARIA, J. (1955) Medianekrose der groszen und mittelgroszen Arterien nach Orthostat. Kollaps des Kan. *Beitr. Path. Anat.* 115, 373.
98. LUDEN, G. (1916) Observations on the changes in the cholesterol content of the blood of goats, following cholesterol feeding alone, roentgen treatment alone and cholesterol feeding combined with roentgentreatment and subsequent castration. *J. Biol. Chem.* 27, 273.
99. MACMILLAN, G. C., A. C. RITCHIE (1960) Effects of dietary fats in rabbits fed cholesterol. *Arch. Path.* 70, 220.
100. MACMILLAN, G. C., L. HORLICK (1955) Cholesterol content of aorta in relation to severity of atherosclerosis. *Arch. Path.* 59, 285.
101. MALINOV, M. R., C. A. STARVICK (1968) Spontaneous coronary lesions in howler monkeys. *J. Atheroscl. Res.* 8, 421.
102. MARCH, B. E. en J. BIELY (1959) Dietary modifications of serum cholesterol in the chick. *J. of Nutrition*, 69, 105.
103. MARCIAL-ROJAS, R. A. en J. R. CASTRO (1962) Irradiation injury to elastic artery in the course of treatment for myoplastic disease. *Ann. otol. rhins. and laryng.* 71, 945.
104. MEYER, W. W. (1968) Atherosclerose im Tierreich. *Deutsche Mediz. Wochenschrift* 93, 1.
105. MIKULASKOVÁ, J., O. LINET en I. BARTOSEK (1962) Versuche zur Beeinflussung der Atheromatose bei Kaninchen durch Dehydroepiandrosteron. *Acta Biol. et Med. Germanica*, 8, 543.
106. NIEBERLE und COHRS (1954) Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. Veb. Gustav Fischer Verlag. Jena.
107. PATERSON, J. C. en J. MILLS (1958) Myocardial mast-cell counts in coronary sclerosis. *Arch. Path.* 66, 335.
108. PEARSON, H. E. S. (1958) De gevoeligheid van hartspier vergeleken met skeletspier. *Discussie in the Lancet* I, 223.
109. PETERS, M. V. and K. C. H. MIDDLEMISS (1958) A study of Hodgkin's disease treated by irradiation. *J. Amer. Roentg.* 79, 114.
110. PETERS, M. V. (1965) Radiation Therapy. *J. Amer. Med. Ass.* 191, 28.
111. PLAATS, v. D. G. J. (1956) Medische röntgentechniek. *De Tijdstroom*, Lochem.
112. PLOETZ, E. (1938) Funktioneller Bau und funktionelle Anpassung der Gleitsehnen. *Zschr. Orth.* 67, 212.

113. POLLACK, O. J. en AKIRA WADA (1967) Extracirculatory cholesterol atherosclerosis in rabbits. *Amer. J. Path.* 50.
114. Prevalance of atherosclerosis in six species of monkeys. *Nutr. Rev.* (1968) 26, 83.
115. PRIOR, J. T., D. M. KURZ en D. D. ZIEGLER (1961) The hypercholesteremic rabbit. *Arch. Path.* 71, 672.
116. PUCK, T. T. en P. I. MARCUS (1956) Action of X-rays on mammalian cells. *J. exp. Med.* 103, 653.
117. RAJEVSKY, B. (1956) *Strahlendosis und Strahlenwirkung*. G. Thieme Verlag, Stuttgart.
118. RATING, B. en G. W. PARADE (1937) Zur Frage der Herzschädigung durch Röntgenstrahlen. *Fortschr. Röntgenstr.* 56, 124.
119. REINHOLD, H. S. Stralingsgevoeligheid van tumoren; een experimenteel onderzoek bij de rat. Publikatie van het Radiobiologisch Instituut van de Gezondheidsorganisatie TNO, Rijswijk (Z-H), Nederland.
120. ROMEIS, B. (1948) *Mikroskopische Technik*. R. Oldenbourg, München.
121. ROSS, J. M. (1932) A case illustrating the effect of prolonged action of radium. *J. Path. Bact.* 35, 899.
122. ROSTI, G. B., M. MANCINI, P. ORIENTE, A. VECCHIONE, R. VECCHIONE, R. CERQUA en M. CUZZUPOLI (1965) Comparative studies on serum lipids and histochemical features of the arterial wall in animal species differently susceptible to experimental atherosclerosis. *J. Atheroscler. Res.* 5, 569.
123. RUBIN, PH. en G. W. CASARETT (1968) *Clinical radiation pathology*. Vol. I, W. Saunders Co. Philadelphia, London.
124. RUCH, TH. C. (1959) *Diseases of laboratory primates*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, London.
125. RUGH, R. (1949) Some physiological after-effects of X-radiation. *J. Exp. Zool.* 110, 357.
126. SCEBAT, L., J. RENAISS en J. LENÈGRE (1961) Athérosclérose expérimentale du lapin. *Arch. Mal. d. Coeur e. d. Vaisseaux* 3, 14.
127. SCHNEIDER, R. (1961) Das Herz bei der Tiefentherapie intrathorakaler Tumoren unter besonderer Berücksichtigung der Telekobaltbestrahlung. *Strahlentherapie* 115, 366.
128. SCHWEIZER, E. (1924) Über spezifische Röntgenschädigungen des Herzmuskels. *Strahlentherapie* 18, 812.
129. SEEGAL, B. C. en D. SEEGAL (1927) Spontaneous bone and marrow formation in the aorta of a rabbit. *Arch. Path.* 3, 73.
130. SENDEROFF, E., M. KANEKO, R. BECK en I. BARONOFKY (1961) The effects of cardiac irradiation upon the normal canine heart. *Am. J. Roentg.* 86, 740.
131. SHEEHAN, J. F. (1944) Foamcell plaques in the intima of irradiated small arteries. *Arch. Path.* 37, 297.
132. STEINER, A., F. E. KENDALL en M. BEVANS (1949) Production of arteriosclerosis in dogs by cholesterol and thiouracil feeding. *Am. Heart J.* 38, 34.
133. STEWART, J. R., L. F. FAJARDO, K. COHN en V. PAGE (1968) Experimental radiation-induced heart disease in rabbits. *Radiology* 91, 4.
134. STEWART, J. R., K. COHN, L. F. FAJARDO, E. E. HANCKOCK en H. S. KAPLAN (1967) Radiation-induced heart disease. *Radiology* 89, 302.
135. STOKER, M. (1963) Effect of X-irradiation on susceptibility of cells to transformation by polyoma virus. *Nature* 200, 756.
136. STOUT, C. en W. B. LEMMON (1969) Predominant coronary and cerebral atherosclerosis in captive nonhuman primates. *Exp. molec. Path.* 10, 312.
137. STRANDQUIST, M. (1944) Studien über die kumulative Wirkung der Röntgenstrahlen bei Fraktionierung. *Acta Radiol. supplement* 55.
138. SWEANY, S. K., W. T. MOSS, F. J. HADDY e.a. (1959) The effects of chest irradiation on pulmonary function. *J. Clin. Invest.* 38, 587.
139. Symposium on „Fractionation and dose-rate” given at the annual congress of the British-Institute of Radiology. (1963) *Brit. J. Radiol.* 36, 153.
140. TAKAOKA, A. (1969) Electrocardiographic study of cardiac damage following irradiation of canine hearts. *Radiol. Clin. e. Biol.* vol. 38, 182.
141. THOMASSON, H. J. (1960) Voedingsvetten en atherosclerose. *Voeding* 7, 359.

142. THOMASSON, H. J. (1963) Voedingsvetten en atherosclerose. Ned. T. Geneesk. 107, 593.
143. THOMASSON, H. J. (1960) Persoonlijke mededeling.
144. TRICOT, R., J. BAILLET en G. HELMCKÈ (1954) La pericardite constrictive post-radiothérapi-
que (à propos d'un cas personnel). Arch. Mal. Coeur 47, 922.
145. ULLMAN, H. J. (1927) The combination of colloidal lead and irradiation in cancer therapy.
J.A.M.A. 89, 1218.
146. VAETH, J. M., L. Z. FEIGENBAUM en M. D. MERRILL (1961) Effects of intensive radiation on
the human heart. Radiology 76, 755.
147. VESSELINOVITSCH, D., R. W. WISSLER en J. DOULL (1968) Experimental production of athe-
rosclerosis in mice. J. Atheroscler. Res. 8, 3.
148. WACHSMANN, F. en A. DIMOTIS (1957) Kurven und Tabellen für die Strahlentherapie. S.
Hirzel Verlag, Stuttgart.
149. WAHRTIN, A. S. en E. A. POHLE (1929) The effect of roentgenrays on the heart. Arch. Int.
Med. 43, 15.
150. WAHRTIN, A. S. en E. A. POHLE (1931) Effect of Roentgen rays on the heart: Toleration dose
for the myocardium of rats. Am. J. Roentg. 25, 635.
151. WARREN, S. (1942) Effects of radiation on normal tissues. Arch. Path. 34, 1070.
152. WERTHEMANN, A. (1930) Experimentelle Röntgenschädigungen des Herzmuskels. Strahlen-
therapie 38, 702.
153. WHITFIELD, A. G. W. en P. B. KUNKLER (1957) Radiation reactions in the heart. Brit. Heart
J. 19, 53.
154. WHITMORE, G. F. en J. E. TILL (1964) Quantitation of cellular radiobiological responses.
Ann. Rev. Nucl. Sc. 14, 347.
155. WILLIAMS, I. G. (1952) Thymic tumour associated with myasthenia gravis with special refer-
ence of the effects of X-ray therapy. J. Fac. Radiol. 3, 176.
156. WISSLER, R. W. en D. VESSELINOVITSCH (1968) Experimental models of human atherosclerosis.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 149, 2, 907.
157. WOOD, P., M. MACGREGOR, O. MAGIDSON en W. WHITTAKER (1950) The effort test in angina
pectoris. Brit. Heart J. 12, 363.
158. World Health Organization (1958) Techn. Report Series no. 143. Classification of athero-
sclerotic lesions.
159. WIJERS, H. J. G. (1960) Anatomie en pathogenese der arteriosclerose. Voeding 21, 277.

CURRICULUM VITAE

Antonius Hubertus Keijser, geboren 22 december 1926 te 's Gravenhage ontving in 1945 het diploma H.B.S. B aan het St. Aloysiuscollege te 's-Gravenhage.

Vanaf 1945 studeerde hij Geneeskunde aan de Rijksuniversiteit te Leiden en behaalde aldaar op 12 maart 1954 het artsdiploma. Na enige maanden militaire dienst en een assistentschap in het Ziekenhuis St. Antoniushove te Voorburg (dr. mr. B. M. Tordoir, chirurg) vestigde hij zich op 1 januari 1955 als huisarts te Leidschendam.

Op 1 april 1961 begon hij de opleiding algemene radiologie aan het Instituut voor Radiologie van de Katholieke Universiteit te Nijmegen (prof. dr. W. H. A. M. Penn) en op 1 april 1965 werd hij als radioloog in het specialistenregister ingeschreven. Van 1 mei 1965 tot 1 november 1966 volgde een stage radiotherapie bij dr. G. Kok, radiotherapeut van het Ziekenhuis van de H. Joannes de Deo te 's-Gravenhage.

Sedert 1 november 1966 is hij als radiotherapeut te Delft werkzaam aan het inmiddels tot stand gekomen Delfts Radiotherapeutisch Instituut van de Stichting Samenwerking Delftse Ziekenhuizen.

